

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SISTEMAS INTENSIVOS DE PRODUÇÃO DE LEITE E SEGURANÇA  
ALIMENTAR: AFLATOXINAS E RESÍDUOS DE  
ORGANOFOSFORADOS E CARBAMATOS

Autor: Rodrigo Barros Navarro  
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos  
Co-orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Novembro - 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SISTEMAS INTENSIVOS DE PRODUÇÃO DE LEITE E SEGURANÇA  
ALIMENTAR: AFLATOXINAS E RESÍDUOS DE  
ORGANOFOSFORADOS E CARBAMATOS

Autor: Rodrigo Barros Navarro  
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos  
Co-orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Novembro - 2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

N322s	<p>Navarro, Rodrigo Barros Sistemas intensivos de produção de leite e segurança alimentar : aflatoxinas e resíduos de organofosforados e carbamatos / Rodrigo Barros Navarro. -- Maringá, 2011. xv, 56 f. : il. col., figs., tabs.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos. Co-orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2011.</p> <p>1. Leite - Produção. 2. Leite - Gordura. 3. Lactação. 4. Pesticidas - Resíduos. 5. Organofosforados. 6. Carbamatos. 7. Aflatoxinas. I. Santos, Geraldo Tadeu dos, orient. II. Almeida, Rodrigo de, co-orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.</p>
CDD 21.ed. 636.2142	
AMMA-00053	

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SISTEMAS INTENSIVOS DE PRODUÇÃO DE LEITE E SEGURANÇA  
ALIMENTAR: AFLATOXINAS E RESÍDUOS DE  
ORGANOFOSFORADOS E CARBAMATOS

Autor: Rodrigo Barros Navarro  
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADO em 25 de novembro de 2011.

---

Prof. Dr. Ernst Eckehardt Muller

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maximiliane Alavarse  
Zambom

---

Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos  
(Orientador)

*Vinde a mim, todos os que estais cansados e sobrecarregados, e eu vos aliviarei. Tomais sobre vós o meu jugo e aprendei de mim, porque sou manso e humilde de coração; e achareis descanso para vossa alma. Porque o meu jugo é suave, e o meu fardo é leve.*

Mateus 11: 28-30

*Se, porém, algum de vós necessita de sabedoria, peça-a a Deus, que a todos dá liberalmente e nada lhes impropria; e ser-lhe-á concedida. Peça-a, porém, com fé, em nada duvidando; pois o que duvida é semelhante à onda do mar, impelida e agitada pelo vento.*

Tiago 1: 5-6

A Deus, pela vida e amor incondicional.

Ao meu pai, João Navarro Ramos, pela lição de vida e constante estímulo ao crescimento profissional e pessoal.

À minha mãe, Leni Barros Navarro, extraordinária mulher, dedicada aos filhos e inigualável amor e incentivo.

Aos meus irmãos, Rafael Barros Navarro e Alisson Barros Navarro, pela vida em conjunto e momentos inesquecíveis.

À minha noiva Tatiane P. da Silva, pela compreensão, amor e dedicação.

DEDICO...

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu a Graça de estar vivo e pelas oportunidades e realizações até o momento;

Ao Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos, pelo excelente auxílio no decorrer do trabalho e ao conhecimento e amizade construída durante o período de pós-graduação;

Aos demais Professores Doutores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá que, de alguma forma, contribuíram para o meu conhecimento e desenvolvimento deste trabalho;

Ao CNPq (Projeto – MAPA – Ed. 064/2008-2) pelo financiamento desta pesquisa;

Ao Dr. Carlos Eduardo C. O. Ramos, pelos inúmeros ensinamentos, ajuda na realização deste trabalho e pela amizade;

Ao Prof. Dr. Ricardo Kazama, pela contribuição no desenvolvimento e nas análises laboratoriais deste trabalho;

Ao Laboratório de Toxicologia Animal da Universidade Estadual de Londrina, em especial a Profa. Dra. Daisy Pontes Netto e Thálitha Jayme, pela contribuição nas análises dos contaminantes;

À Daniela Andressa Lino Lourenço, pela grande ajuda nas análises estatísticas;

À Capal Cooperativa Agroindustrial, pelo incentivo e apoio na realização do Mestrado;

Ao Prof. Dr. Rodrigo de Almeida, incentivador da realização do mestrado, amigo e a quem dedico grande parte do meu conhecimento;

Aos produtores, que cederam as informações para este trabalho;

Aos amigos de trabalho: André Ostrensky, Mara C. da Costa, Isabelle Cavalari, Andressa Fantin e Lourenço Teixeira, pela amizade, conhecimento e companheirismo.



## BIOGRAFIA

RODRIGO BARROS NAVARRO, filho de João Navarro Ramos e Leni Barros Navarro, nascido em Santo André – São Paulo, no dia 17 de setembro de 1981.

No ano de 2007, concluiu o Curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Santa Maria, na cidade de Santa Maria – Rio Grande do Sul.

No mês de abril de 2007, ingressou na CAPAL Cooperativa Agroindustrial, na cidade de Arapoti – Paraná para atuar como Nutricionista Animal junto a produtores de leite e corte.

Em fevereiro de 2009, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, desenvolvendo estudo na área de Bovinocultura de Leite.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Produção e produtividade da pecuária leiteira brasileira e paranaense .....	1
1.2 Sistemas intensivos de produção leiteira .....	3
1.3 Impacto do sistema de produção na composição do leite .....	4
1.4 Leite de qualidade: Segurança alimentar .....	6
1.4.1 Micotoxinas .....	6
1.4.1.1 Aflatoxinas .....	8
1.4.2 Organofosforados e carbamatos .....	12
1.5 Análise estatística dos dados .....	14
Literatura Citada .....	15
OBJETIVO GERAL .....	22
I – Contaminação por Aflatoxinas e Resíduos de Organofosforados e Carbamatos em Propriedades Leiteiras da Região dos Campos Gerais	
Resumo .....	23
Abstract .....	24
Introdução .....	25
Material e Métodos .....	26

Resultados e Discussão .....	28
Conclusões .....	34
Literatura Citada .....	36
II - Agrupamento dos Sistemas de Produção de Leite e Avaliação do Comportamento da Composição do Leite nesses Sistemas	
Resumo .....	39
Abstract .....	40
Introdução .....	41
Material e Métodos .....	42
Resultados e Discussão .....	43
Conclusões .....	53
Literatura Citada .....	54

## LISTA DE TABELAS

	Pagina
Tabela 1 Limites máximos permitidos para aflatoxinas no Brasil, União Europeia e Estados Unidos.....	11
Tabela 2 Limite máximo de resíduos de pesticidas descrito pelo <i>Codex Alimentarius</i>	13
Tabela 3 Análises de aflatoxinas B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> e G <sub>2</sub> em ingredientes de propriedades leiteiras da região dos Campos Gerais.....	29
Tabela 4 Dados de produtividade e valores de aflatoxina M <sub>1</sub> nos dois períodos de coletas.....	30
Tabela 5 Análises de Organofosforados (OF) e Carbamatos (CB) em amostras de concentrados fornecidos para animais em lactação.....	34
Tabela 6 Relação das variáveis de eleição submetidas à ACM e seus níveis de ocorrência.....	42
Tabela 7 Correlação entre as variáveis transformadas para a ACM.....	46
Tabela 8 Descrição dos clusters conforme algumas variáveis eleitas.....	47

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Aquisição anual de leite e sua variação - Brasil - 1997 a 2010.....	2
Figura 2 Estrutura química das principais aflatoxinas.....	9
Figura 3 Contaminação por AFM1 nos dois períodos C1 (A) e C2 (B) de acordo com GLM.....	31
Figura 4 Distribuição dos valores de aflatoxina M1 e o limite máximo tolerável para Brasil, Food and Drug Administration (FDA) e União Europeia (UE).....	32
Figura 5 Frequência de resíduo de Organofosforado (OF) e Carbamato (CB) em amostras de leite da região dos Campos Gerais.....	33
Figura 6 Representação das variáveis e suas contribuições para a formação das duas dimensões da ACM.....	44
Figura 7 Contribuição das variáveis e seus níveis de incidência para a formação do plano fatorial da análise de correspondência múltipla (ACM).....	45
Figura 8 Representação das tipologias dos SPL sobre o plano fatorial para ACM.....	48
Figura 9 Efeito da ordem de lactação na produção de leite.....	49
Figura 10 Efeito da ordem de lactação na porcentagem de gordura no leite.....	50

Figura 11 Efeito da ordem de lactação na porcentagem de proteína.....	51
Figura 12 Efeito da ordem de lactação na porcentagem de lactose.....	51
Figura 13 Efeito da ordem de lactação no escore de células somáticas.....	52

## RESUMO

Com objetivo de avaliar a contaminação por micotoxinas e resíduos de organofosforados e carbamatos e avaliar o comportamento da composição do leite dos Sistemas Intensivos de Produção de Leite (SIPL), realizou-se estudos em 31 propriedades leiteiras da região dos Campos Gerais, no ano de 2009/2010. Amostras de leite foram analisadas para AFM<sub>1</sub> por meio de um kit-imunoensaio ELISA competitivo Ridascren<sup>®</sup> e os concentrados analisados para Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> pelo método de cromatografia de camada delgada (CCD). A determinação dos resíduos de organofosforados e carbamatos no leite e concentrados foi realizada por método colorimétrico qualitativo. Observou-se contaminação de 93,5% das amostras de leite por AFM<sub>1</sub>, porém, todas abaixo, do limite máximo tolerável pela legislação brasileira (0,5 µg.L<sup>-1</sup>). Não houve diferença estatística (P>0,05) para as duas estações do ano (janeiro e julho de 2010). Para resíduos de organofosforados, notou-se contaminação de 71,0% das amostras de leite e 30,7% nos concentrados e para carbamatos, foi observado contaminação de 19,4% das amostras de leite e 11,7% nos concentrados. Medidas adequadas de manejo pecuário e agrícola são importantes para evitar contaminação do leite e dos concentrados para alimentação animal. Para avaliar o comportamento dos componentes do leite nos diferentes SIPL, utilizaram 26 controles leiteiros oficiais de propriedades leiteiras e informações dos sistemas de produção. Realizou-se o método de seleção das variáveis, por meio da Análise de Correspondências Múltiplas (ACM) e Análise de Classificação Hierárquica Ascendente (CHA), em seguida análise de regressão considerando as variáveis respostas contra a covariável ordem de lactação. Com a formação dos clusters se observa o comportamento dos componentes do leite, em que a produção de leite e a contagem de células somáticas aumentam com o avanço

da ordem de lactação. A porcentagem de proteína, lactose e sólidos totais tenderam a queda pelo efeito do aumento da produção de leite e a porcentagem de gordura teve pequena variação. Independente do SIPL, representado pelos clusters, os componentes do leite se comportam da mesma maneira com o avanço da ordem de lactação.

**Palavras-chave:** componentes do leite, gordura, lactação e pesticidas



## ABSTRACT

In order to measure the contamination by mycotoxins and residues of organophosphates and carbamates and to evaluate the behavior of the milk composition in the Dairy Production Intensive System (DPIS) there was carried out studies from 31 dairy farms in the region of Campos Gerais in the year 2009/2010. Milk samples were analyzed for AFM<sub>1</sub> through a competitive ELISA immunoassay kit-Ridascren<sup>®</sup> and concentrates analyzed for aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> by the method of thin layer chromatography - CCD. The residues of organophosphates and carbamates in milk and concentrates were determined by the qualitative colorimetric method. There was contamination of 93.5% of AFM<sub>1</sub> in milk samples, but all below the maximum tolerable limit by the Brazilian legislation (0.5 µg.L<sup>-1</sup>). There was no statistical difference (P>0.05) between seasons (January and July 2010). For organophosphate residues it was observed contamination of 71.0% of the milk samples and 30.7% in concentrates, whereas for carbamate it was observed contamination of 19.4% of the milk samples and 11.7% in concentrates. Adequate measures in the livestock and agriculture management are important to prevent contamination of milk and concentrated feed. To evaluate the behavior of the components of milk in different DPIS it was used official milk recording data from 26 dairy farms and production systems. It was carried out the method of variables selection through the Multiple Correspondence Analysis (MCA) and Analysis of Ascending Hierarchical Classification (AHC), then regression analysis considering the response variables against the covariate lactation number. With the formation of the clusters it was observed the behavior of the milk components, where both milk production and somatic cell count increased with advancing lactation number. The contents of protein, lactose and total solids tended to decrease with the effect the

increased milk yield, whereas the fat percentage showed little variation. Regardless of the DPIS, represented by clusters, milk components behaved the same way with increasing lactation number.

**Key words:** fat, lactation, milk components and pesticides

## INTRODUÇÃO

### **1.1 Produção e produtividade da pecuária leiteira brasileira e paranaense**

A oferta brasileira de leite vem crescendo acima da média mundial. Projeções indicam que a produção mundial de leite crescerá aproximadamente 15,9%, entre 2005 e 2015. No mesmo período, estima-se que a produção brasileira expandirá 22% ao ano (Embrapa, 2006).

Segundo a FAO (2009), a produtividade brasileira é de 1.235L/vaca/ano e 7,4 vezes inferior a maior produtividade mundial, a americana com 9.118L/vaca/ano. O Brasil possui o segundo maior rebanho leiteiro do mundo, atrás apenas da Índia e ocupa a quinta colocação entre os principais países produtores de leite de vaca no mundo, com uma produção de 29,1 mil toneladas. Em primeiro lugar estão os Estados Unidos (85,8 mil ton.) seguidos por Índia (45,1 mil ton.), China (35,5 mil ton.) e Federação Russa (32,3 mil ton.).

A aquisição de leite teve aumento de 7,0% no comparativo de 2010 com 2009. Verificou-se que desde 1997, a aquisição anual de leite pelas indústrias foi crescente, apresentando, variação anual positiva em todos os anos de sua série histórica (Figura 1).

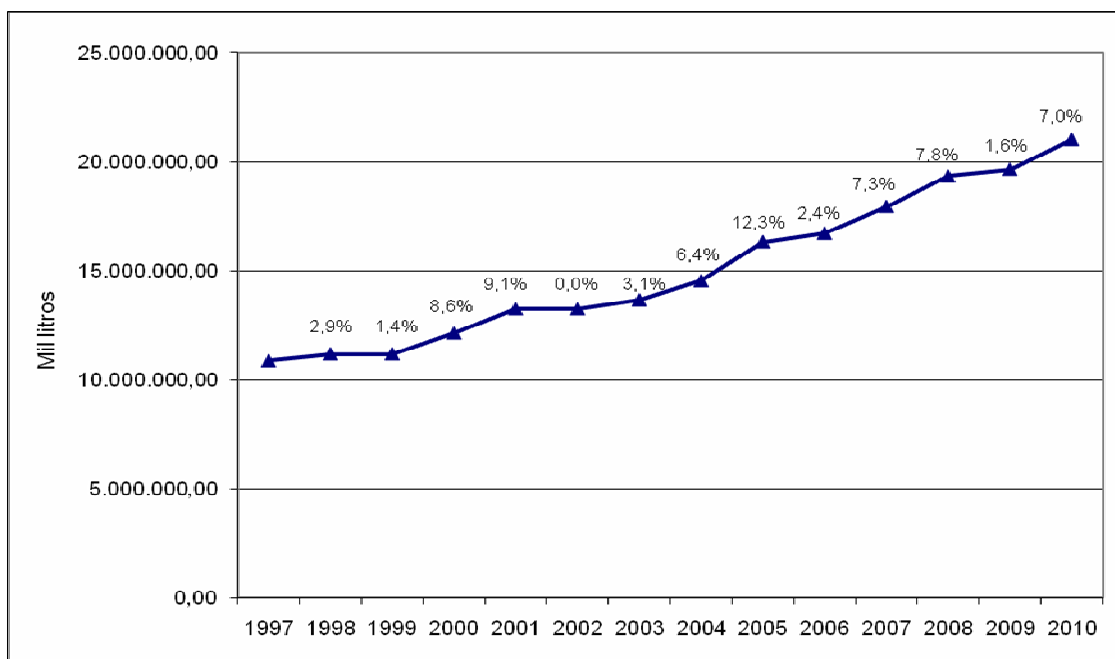


Figura 1 – Aquisição anual de leite e sua variação - Brasil - 1997 a 2010

Fonte: IBGE, 2011

Até recentemente, a participação brasileira no mercado internacional era limitada, essencialmente, às importações de produtos lácteos, apesar da oferta interna ter se elevado gradativamente ao longo dos anos. Hoje, o Brasil participa no mercado internacional com exportações para Venezuela, Argélia, Senegal, Argentina, Estados Unidos, Angola, Cuba e outros países. Os principais produtos brasileiros de lácteos exportados são o leite em pó e o leite condensado. As exportações deste último agregam valor ao aço como embalagem do produto, ao açúcar e ao leite que são matérias-primas cuja competitividade brasileira é inequívoca (Massuda et al., 2010).

Dentro da América do Sul, o Brasil ocupa a primeira posição, com um volume de leite produzido duas vezes e meia maior que a segunda colocada, a Argentina. Em se tratando do Brasil, o Estado de Minas Gerais ocupa a primeira colocação no ranking nacional com produção de leite de 7.931 bilhões de litros, seguido por Rio Grande do Sul com 3.400 bilhões, Paraná com 3.339 bilhões, Goiás com 3.003 bilhões, Santa Catarina 2.237 bilhões e São Paulo com 1.583 bilhões (IBGE, 2006). Com base nestes dados, percebe-se a importância do leite para a economia da região Sul do país, que tem seus três estados entre os cinco primeiros colocados no ranking de produção de leite.

No Paraná três bacias leiteiras se destacam na produção de leite: Centro-Oriental, Oeste e Sudoeste. Estas bacias envolvem 95 municípios, concentram 48,5%

dos produtores e são responsáveis por 53% da produção estadual de leite (Ipardes, 2009).

Em levantamento realizado pelo Milkpoint, com base em dados do ano de 2010, constatou-se que entre os 100 maiores produtores de leite no Brasil, Minas Gerais é líder com 45 produtores e em segundo, o Paraná com 23 produtores. Entre as 12 melhores médias de leite/vaca/dia, dez estão no Estado do Paraná, mais precisamente nos municípios de Castro, Arapoti e Carambeí. A existência de um “cluster” de produção de leite altamente tecnificado e baseada na exploração de rebanhos puros confinados ou semi-confinados na região de Campos Gerais explica a significativa ocorrência de grandes produtores no Estado do Paraná (Milkpoint, 2010).

## **1.2 Sistemas Intensivos de Produção Leiteira**

Sistema é definido como um conjunto de componentes inter-relacionados e organizados dentro de uma estrutura autônoma, operando de acordo com objetivos determinados. Sistemas são sensíveis ao meio ambiente com o qual interagem, apresentando geralmente variáveis, dinâmicos e imprevisíveis. A interação entre os componentes e entre o meio ambiente e o sistema como um todo, é bem mais complexo e mais compreensivo do que a soma das partes individuais. Os sistemas podem ser entendidos nos mais diversos níveis, como por exemplo, uma célula, uma folha, um animal, uma propriedade, uma região, o planeta (Pinheiros, 2000).

Segundo a definição de sistemas de produção utilizada por Roehsig (2006), ele compreende, para fins metodológicos, dois subsistemas principais o biotécnico e o decisional. O primeiro diz respeito aos meios de produção, tanto aos animais como insumos, submetidos aos processos de transformação biológica da qual resultam os produtos do sistema; o segundo, por sua vez, é composto essencialmente pelo produtor, agente das decisões. As regras que regem esse segundo subsistema são mais contextuais e menos previsíveis com relação ao anterior.

O sistema de produção leiteira (SPL) é constituído pelo conjunto de manejos ou práticas agropecuárias e pelos fatores fixos e variáveis que, ao serem integrados de forma mais ou menos organizada em processo produtivo, definem níveis de produção e eficiência que podem alcançar a exploração (Smith et al., 2002).

Nas palavras de Hostiou et al. (2006), a propriedade agrícola é cada vez mais reconhecida como um objeto de estudo complexo. Torna importante quando nela se

intervém para fornecer um conselho de orientação ou uma ajuda à gestão. A complexidade reside em todos os fatos sociais, culturais, produtivos, climáticos, geográficos e políticos que abrangem uma região, cuja superfície além de local de moradia e convivência é direcionada para alguma atividade produtiva, ao contrário da visão produtivista, que aponta unicamente para a característica do campo ser o local de produção.

Para gestão do sistema, o produtor mobiliza informações de diferentes fontes e utiliza ferramentas para definir as ações de longo, médio e curto prazo (estratégia, tática e operacional, respectivamente). Ressalta-se que o maior enfoque seria o operacional, sendo que a estratégia e tática são pensadas de forma empírica, muitas vezes seguindo uma tradição familiar para projetar o futuro e reagir às adversidades e/ou oportunidades (econômicas, climáticas e sociais) (Damasceno et al., 2008).

Segundo Smith et al. (2002), um dos motivos para o estudo, de grupos homogêneos de sistemas de produção é a compreensão mais profunda em termos de eficiência produtiva, custos, eficiência técnica e econômica dos sistemas, sem precisar recorrer a estudos de casos individuais, geralmente bastante onerosos, demandando muito tempo.

### **1.3 Impacto do sistema de produção na composição do leite**

A exigência em qualidade por parte dos consumidores e indústrias tem norteado a regulamentação das fases de produção, transformação e distribuição dos produtos lácteos. No que diz respeito à produção, exigências quanto à qualidade sanitária e nutricional do leite tem obrigado o produtor a sair da zona de conforto (Damasceno et al., 2008).

A qualidade nutricional (gordura, proteína, lactose e sólidos totais) e sanitária (contagem de células somáticas e microbianas) do leite é constituída a partir de práticas desenvolvidas pelos indivíduos que se ocupam do manejo do rebanho, envolvendo alimentação, sanidade e ordenha. Portanto, a gestão da qualidade deverá se ocupar do planejamento, controle e melhoria desses processos, principalmente nos procedimentos de ordenha, armazenamento e transporte do leite (Damasceno et al., 2008).

O sistema de produção aliado a nutrição são considerados os principais responsáveis pela alteração da composição do leite. Embora outros fatores como genética e ambiente, nível de produção de leite, estágio de lactação, doenças (mastite),

sazonalidade e idade das vacas contribuem para alterar essa composição (Damasceno et al., 2008).

*Genética e ambiente:* o rendimento de proteína, gordura e sólidos totais não são facilmente impactados pela genética; herdabilidades estimadas para características produtivas são relativamente baixas; cerca de 0,25. Enquanto isso, a herdabilidade para composição de leite é bastante elevada; cerca de 0,50. Por outro lado, fatores ambientais, como nutrição e manejo alimentar terão impacto maior na produção de leite comparado a composição dos componentes principais do leite (Block, 2000).

*Nível de produção:* as produções de gordura, proteína e sólidos totais são altamente e positivamente correlacionados com a produção de leite (Ribas et al., 1983; Block et al., 1995; Block, 2000).

*Ordem e estágio de lactação:* a produção de gordura e proteína no leite acompanha a curva de produção de leite tendo seu ápice na 4<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> lactação. A concentração de gordura e proteína no leite é maior no início e final da lactação e menor durante o pico de produção de leite. Normalmente, um aumento na produção de leite é seguido por uma diminuição nos percentuais de gordura e proteína do leite, enquanto os rendimentos desses constituintes permanecem inalterados ou aumentados (Noro et al., 2006; Souza, 2008).

*Doença:* embora outras doenças possam afetar os componentes do leite, a mastite é considerada a de maior importância e a mais estudada. Animais com quadro de mastite apresentam porcentagem de gordura, lactose e sólidos totais diminuídos e porcentagem de proteína constante (Fox et al., 2000; Marques et al., 2002; Magalhães et al., 2006). Em conjunto com essas alterações e associado com queda na concentração de caseína, aumento do conteúdo de proteína do soro do leite, alteração do pH do leite, resultam em rendimentos mais baixos e propriedades industriais inadequadas (Machado et al., 2000; Pereira et al., 2001)

*Sazonalidade:* percentagens de gordura e proteína são maiores durante o outono e inverno e menores durante a primavera e verão. Essa variação está relacionada com alterações do tipo de alimento disponíveis e condições climáticas. Clima quente e alta umidade diminuem a ingestão de matéria seca, resultando em menor ingestão de forragem e fibra (Bajaluk, 2000; Noro et al., 2004; Teixeira et al., 2005).

## **1.4 Leite de qualidade: Segurança alimentar**

A qualidade do leite foi definida por Wolter (1997) como sendo o conjunto das propriedades desejadas pelo consumidor. Ou seja, implica em segurança da qualidade sanitária (bacteriológica e química), valor gastronômico (sabor, odor) e valor nutricional. Assim, a qualidade do leite está ligada a sua faculdade de conservação e aptidão de ser transformado, como rendimento, em derivados igualmente saborosos e de alto valor nutritivo.

No Brasil, a produção e o consumo de leite e outros produtos lácteos têm crescido a cada ano (Embrapa, 2006). Ao mesmo tempo, aumentam as preocupações com a qualidade e a segurança do leite. Alguns riscos associados a este produto podem ser eliminados pelos tratamentos térmicos, mas outros precisam ser prevenidos ou controlados por procedimentos adequados, desde o manejo com o animal até o armazenamento (Kan, 2007; Weigel, 2007).

Em qualquer exploração pecuária o produtor deve buscar não só altos índices de produtividade, como também a qualidade do produto. Isto se torna mais evidente no momento em que o mundo globalizado exige produtos de qualidade, e o consumidor adquiriu consciência da necessidade de consumir produtos de origem animal com segurança da qualidade higiênica-sanitária (Jobim et al., 2001).

A exigência do mercado nacional e internacional com a qualidade do leite, ausência de resíduos e substâncias nocivas a saúde humana faz com que as instituições de pesquisa se especializem em análises específicas e os setores alimentícios se preocupem com seus produtos e matérias-primas. As exigências do mercado consumidor e o controle exercido pelas agências governamentais nacionais e internacionais, apontam para a necessidade de pôr em prática programas de monitoramento da qualidade dos alimentos.

O cenário brasileiro de constante crescimento na produção e as ótimas oportunidades de conquistar melhores mercados internacionais, exigirá do produto brasileiro maior controle de qualidade e adequação as legislações de cada país.

### **1.4.1 Micotoxinas**

Micotoxinas são substâncias tóxicas resultantes do metabolismo secundário de diversas linhagens de fungos filamentosos (Mallmann, 2007; Oliveira, 1998). São de



ocorrência universal, porém, predominam em climas tropicais e subtropicais, nos quais o desenvolvimento fúngico é favorecido pelas condições ambientais (Mallmann, 2007).

As micotoxinas começaram a receber maior importância científica a partir de 1960, pela mortalidade de um grande número de aves na Europa, principalmente Inglaterra. Os testes realizados revelaram que a causa da mortalidade era uma toxina presente na ração fornecida aos animais. Posteriormente, essas toxinas foram identificadas como sendo toxinas produzidas por fungos da espécie *Aspergillus flavus*, sendo denominadas aflatoxinas. Com o avanço das pesquisas, ficou evidente que as aflatoxinas possuem propriedades extremamente tóxicas tanto as aves como os mamíferos (Mallmann, 2007).

A contaminação pré e pós-colheita de vários alimentos por fungos micotoxigênicos é um problema comum; aproximadamente 25% dos alimentos do mundo são contaminados por micotoxinas anualmente. A severidade da contaminação por micotoxinas das *commodities* agrícolas variam anualmente. Excessiva umidade no campo e no armazenamento, temperatura extrema, variações em práticas de colheita e infestação de insetos são os principais fatores ambientais que determinam a gravidade da contaminação por micotoxinas. Embora o resultante real das perdas econômica para agricultura seja de difícil determinação, provavelmente são elevadas (Coulombe, 1993).

Em animais domésticos, como bovinos de leite, suínos e aves, a contaminação por micotoxinas reduz a eficiência de crescimento, piora a conversão alimentar e as taxas de reprodução, diminui a resistência aumentando a incidência das doenças infecciosas, reduz a eficácia da vacinação, e induz danos patológicos ao fígado e outros órgãos. Muitas micotoxinas estão relacionadas com doenças humanas, potentes agentes carcinogênicos. Por essa razão, as micotoxinas representam uma grande ameaça a saúde pública e animal (Coulombe, 1993).

Dentre as micotoxinas que contaminam os alimentos, as mais estudadas e de maior importância econômica são as aflatoxinas, a zearalenona, os tricotecenos, a fumonisina e a ocratoxina (Molin, 1999). As micotoxinas podem aumentar a incidência de doenças e diminuir a eficiência produtiva do gado. Os efeitos são decorrentes de três mecanismos primários: alteração do conteúdo nutricional, da absorção e do metabolismo; alteração na função endócrina e neuroendócrina; e supressão do sistema imune (CAST, 1989).

As aflatoxinas são as micotoxinas que mais causam preocupação, por apresentar propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas, causando grandes danos à

saúde humana e elevados prejuízos econômicos no rendimento de animais domésticos, tais como bovinos, ovinos, suínos, aves e coelhos (Lazzari, 1997). A aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) apresenta o maior grau de toxicidade para animais, seguida das aflatoxinas M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>), G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>), B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>) e G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>) (Gourama & Bullerman, 1995). Por estas razões, a AFB<sub>1</sub> é a micotoxina regulamentada pela Food and Drug Administration (FDA).

#### 1.4.1.1 Aflatoxinas

A aflatoxina é um tipo de micotoxina muito importante para a produção de leite e para a saúde pública (González et al., 2005). Essa micotoxina é estritamente produzida pelos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, e ambos são bolores que pertencem à flora de armazenagem, mas também são comuns no solo, podendo infestar uma larga escala de produtos agrícolas. As rações e outros alimentos para animais de produção podem ser contaminados com frequência, e essa contaminação pode variar de acordo com as condições ambientais, como a umidade do substrato e a temperatura ambiente (Shundo et al., 2009).

As quatro principais aflatoxinas são divididas nos grupos B e G, que se referem às suas propriedades fluorescentes. Sob luz ultravioleta de ondas longas, as aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> apresentam fluorescência azul e as aflatoxinas G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> apresentam fluorescência verde (Gourama & Bullerman, 1995; Hussein & Brasel, 2001). Os números 1 e 2 designam a motilidade cromatográfica, ou fator de retenção (Rf), dos compostos em placas de cromatografia em camada delgada (CCD) (Gourama & Bullerman, 1995).

Enquanto a *A. parasiticus* produz as aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, o *A. flavus* produz apenas as aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> (Gourama & Bullerman, 1995; Creppy, 2002). Entre elas, as aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> são as de maior ocorrência e em um maior número de produtos (Pittet, 1998; Sweeney & Dobson, 1998).

Quando ingeridas, a aflatoxina B<sub>1</sub> e a aflatoxina B<sub>2</sub> são metabolizadas, podendo ser convertidas em diversos metabólitos, entre os quais encontram seus compostos hidroxilados, a aflatoxina M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) e a aflatoxina M<sub>2</sub> (AFM<sub>2</sub>), respectivamente (Goldblatt, 1969; Gourama & Bullerman, 1995).

O ponto de fusão, ou seja, a temperatura em que a AFB<sub>1</sub> e AFG<sub>1</sub> se decompõem é 268-269°C e 244-246°C, respectivamente, enquanto o da AFM<sub>1</sub> é 299°C (Goldblatt, 1969), caracterizando-se assim como compostos com grande estabilidade térmica.

Quimicamente, as aflatoxinas apresentam estruturas intimamente relacionadas entre si, formando um grupo único de compostos heterocíclicos altamente oxigenados (furocumarinas complexas). As aflatoxinas apresentam um núcleo central cumarínico ligado a uma estrutura bi-furanoide; as aflatoxinas B apresentam anel ciclopentanone enquanto as do grupo G apresentam anel lactona na molécula (Gourama & Bullerman, 1995). As aflatoxinas que possuem uma dupla ligação no carbono terminal do anel diidrofurano, como a aflatoxina B<sub>1</sub>, aflatoxina G<sub>1</sub> e aflatoxina M<sub>1</sub> (Figura 2), são mais suscetíveis aos efeitos de agentes oxidantes, com o peróxido de hidrogênio (Yousef & Marth, 1985).

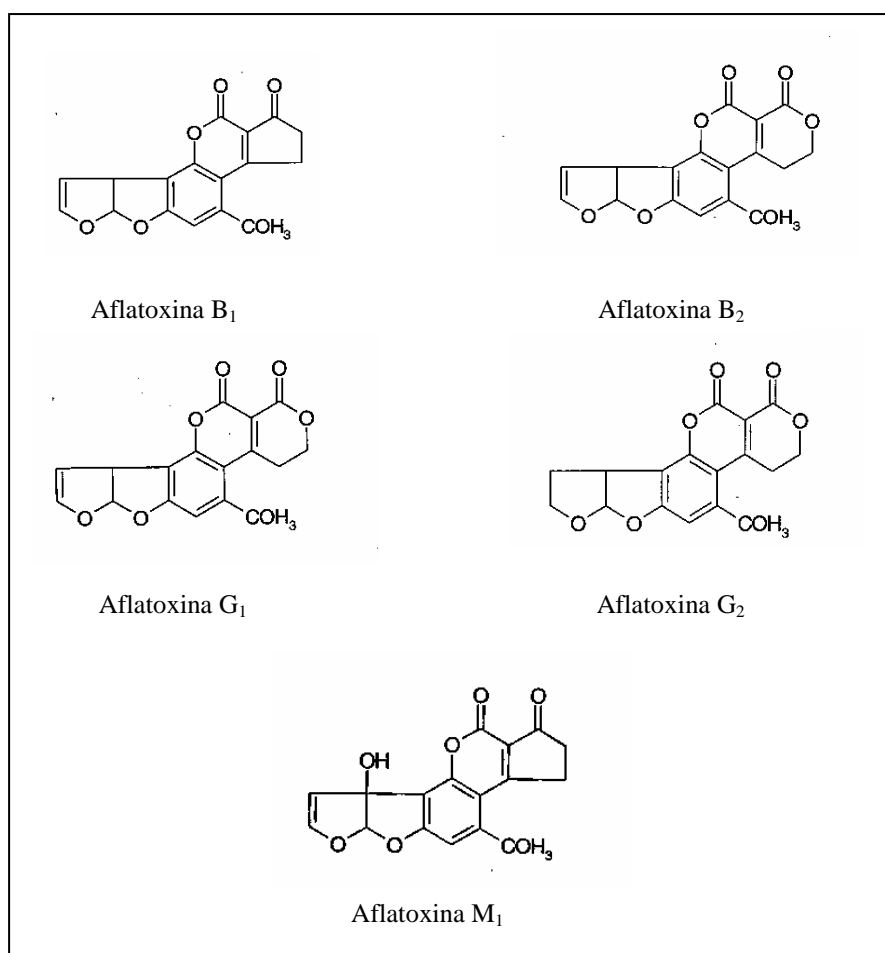


Figura 2 – Estrutura química das principais aflatoxinas

Fonte: Hussein & Brasel (2001)

Entre todas, a aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) é considerada a mais importante, pelo seu alto potencial tóxico, sendo considerada também da mais potentes hepatocarcinógenos conhecidos em grande variedade de espécies animais, e também em humanos (Hussein & Brasel, 2001; IARC, 2002; Moss, 2002).

A intoxicação ocorre quando os animais consomem ingredientes contaminados com as aflatoxinas precursoras, promovendo uma degradação parcial no rúmen e absorção via trato gastrointestinal. Pelo sistema porta é transportada para o fígado sendo metabolizada. Uma fração da aflatoxina é ativada e retida nos tecidos hepáticos, e alguns metabólitos conjugados da aflatoxina B<sub>1</sub> são excretados através das fezes. Outras formas conjugadas, hidrossolúveis, produtos da degradação da aflatoxina B<sub>1</sub> são lançados no sistema circulatório, e se distribuem de forma sistêmica, passando eventualmente para o leite, além de outros produtos de origem animal como carne e ovos (Shundo et al., 2009).

Através da reação de hidroxilação, a AFB<sub>1</sub> origina as aflatoxinas M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) e Q<sub>1</sub> (AFQ<sub>1</sub>), enquanto a demetilação produz aflatoxina P1 (AFP<sub>1</sub>). Esses metabólitos são conjugados e excretados principalmente através da urina e bile. A formação desses derivados podem constituir parte do processo de detoxificação da AFB<sub>1</sub>, embora alguns compostos, como a AFM<sub>1</sub>, também apresentam toxicidade em modelos experimentais (Biehl & Buck, 1987).

Em diversos estudos realizados, foi encontrada uma relação diretamente proporcional entre a quantidade de AFM<sub>1</sub> secretada no leite e a quantidade de AFB<sub>1</sub> ingerida pelo animal (Goldblatt, 1969; Veldman et al., 1992; Kamkar, 2005).

A taxa de conversão de AFB<sub>1</sub> que é ingerida e biotransformada em AFM<sub>1</sub> é cerca de 0,3 a 6,2% (Creppy, 2002; Jecfa, 2002), no entanto, estima-se que esta conversão seja normalmente de 1 a 3%. A imprecisão dos valores de conversão de AFB<sub>1</sub> em AFM<sub>1</sub> reforça a importância de realizar análises rotineiras no leite e em seus derivados como fator imprescindível para o controle da presença de AFM<sub>1</sub> (Pereira et al., 2005).

A Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer (IARC, do inglês, *International Agency for Research on Cancer*), classificou aflatoxina B<sub>1</sub> e aflatoxina M<sub>1</sub> como classe 1 (carcinogênico para humanos) e classe 2B (possivelmente carcinogênico para humanos), respectivamente.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) pelas técnicas de determinação denominadas enzima-imunoensaio (Elisa) e cromatografia de camada delgada (CCD) permite como limite máximo 0,5 µg de M<sub>1</sub>/kg de leite. Essa normatização ficou definida na Instrução Normativa N° 9, de 30 de março de 2007, que aprova os Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carne (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado. Nos alimentos o máximo permitido na legislação brasileira é de 20 ppb (µg/kg).

A legislação na União Europeia, estabelece uma concentração máxima permitida de 0,005 mg de aflatoxina B<sub>1</sub>/kg de alimento (5ppb), e 0,05 µg de aflatoxina M<sub>1</sub> por litro ou quilo (0,05 ppb) de leite. A legislação Americana é um pouco mais tolerante quanto à aflatoxina M<sub>1</sub>, porque permite uma concentração máxima de 0,5 µg (0,5ppb) por litro de leite (Tabela 1).

Tabela 1 – Limites máximos permitidos para aflatoxinas no Brasil, União Europeia e Estados Unidos

Órgão	Alimento	Aflatoxina	Limite máximo (µg.L <sup>-1</sup> ou µg.Kg <sup>-1</sup> )
ANVISA e MAPA	Amendoim (com casca, descascado, cru ou tostado), pasta ou manteira de amendoim	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>	20
	Milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído, farinhas)	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>	20
	Matéria-prima ou ingrediente para consumo animal	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>	50
	Leite fluído	M <sub>1</sub>	0,5
	Leite em pó	M <sub>1</sub>	5
	Queijos	M <sub>1</sub>	2,5
	União Europeia	Matéria-prima para rações	B <sub>1</sub>
Ração pronta		B <sub>1</sub>	10
Ração destinada ao gado leiteiro		B <sub>1</sub>	5
Leite cru ou destinado a elaboração de produtos à base de leite e leite tratado termicamente		M <sub>1</sub>	0,05
Produtos lácteos, alimentos dietéticos e produtos destinado a lactentes		M <sub>1</sub>	0,025
FDA (Estados Unidos)	Milho, amendoim, farelo de algodão e outros ingredientes para rações destinada a gado leiteiro	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>	20
	Leite integral, semi-desnatado e desnatado	M <sub>1</sub>	0,5

### 1.4.2 Organofosforados e carbamatos

Praquicidas podem ser definidos como qualquer substância ou mistura de substâncias utilizadas com intenção de prevenir, destruir ou repelir qualquer praga, e não se refere apenas a inseticidas, mas também a herbicidas, fungicidas e outras substâncias usadas para controle de pragas (EPA, 2011).

O Brasil é o terceiro maior consumidor de praguicidas no mundo, primeiro na América Latina, e oitavo maior em uso por área cultivada (Sindag, 2003; Anvisa, 2005; Brasil, 2005).

Os organofosforados e carbamatos fazem parte do grupo de agentes anticolinesterásicos, sendo que o primeiro inibe a enzima acetilcolinesterase de modo irreversível e o segundo é um inibidor reversível (Vital, 2002).

Ao contrário dos organoclorados, os organofosforados e carbamatos não se acumulam no organismo. Porém, seus efeitos são cumulativos e, alguns organofosforados podem gerar efeitos neurotóxicos tardios que se estendem por dias ou semanas, como paralisia e alterações da musculatura cardíaca (Rubí et al., 1998; Silva et al., 2008).

O leite é uma das vias de excreção dos praguicidas. A presença dessas substâncias no leite assume importância ainda maior quando se considera o leite como matéria-prima de vários produtos, uma vez que os resíduos desses praguicidas não serão eliminados por nenhum tratamento térmico ou processamento posterior, permanecendo nos produtos beneficiados destinados ao consumo (Costabeber & Emanuelli, 2002). A natureza lipossolúvel e a habilidade que os organofosforados possuem em se ligar à caseína podem levar a sua persistência no leite, aumentando as chances de contaminação para os consumidores (Deiana & Fatichenti, 1992).

Estudos destinados à pesquisa de resíduos de organofosforados e carbamatos no leite são menos frequentes, mas sua importância vem aumentando a cada ano com o aumento da sua utilização. Nos Estados Unidos, por exemplo, os organofosforados representam 70% dos inseticidas utilizados, número que vem aumentando desde 1980 (EPA, 2001).

Os níveis de contaminação por resíduos de organofosforados e carbamatos em amostras de água, alimentos para animais e leite são considerados preocupantes e apontam para a implantação de um sistema de vigilância toxicológica no Brasil para

monitoramento de resíduos em alimentos de consumo animal e humano (Santaeufemia, et al., 2006; Fagnagi, 2008; Melgar et al., 2010).

O Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCR foi instituído pela Portaria Ministerial nº. 51, de 06 de maio de 1986 e adequado pela Portaria Ministerial nº. 527, de 15 de agosto de 1995. O Plano visa conhecer a exposição da população aos resíduos nocivos à saúde presentes em alimentos de origem animal e impedir o abate para consumo de animais em que se tenha constatado violação dos limites máximos de resíduos (LMR) e, sobretudo, o uso de medicamentos proibidos no território nacional (Brasil, 1999).

A legislação internacional (Codex Alimentarius, 2008) determina LMR para diversos princípios ativos (Tabela 2) em diferentes produtos servindo de referência para substâncias não contempladas pela legislação nacional.

Tabela 2 - Limite máximo de resíduos de pesticidas descrito pelo *Codex Alimentarius*

Pesticidas	LMR* (mg/kg)		
	Milho	Soja	Leite
2,4 D	0,05	0,01	0,01
Acefato	-	0,3	0,02
Aldicarb	0,05	0,02	0,01
Carbaril	0,02	0,2	0,05
Carbofuran	0,05	-	0,05
Clorpirifós	0,05	0,1	0,02
Cipermetrina	-	-	0,05
Coumafós	-	-	0,05
Dimetoato	-	-	0,05
Fention	-	-	0,05
Glifosato	5	20	0,05
Malation	0,05	-	0,01
Metamidofós	-	0,1	0,02
Metil pirimifós	-	-	0,01

\*LMR: Limite Máximo de Resíduo

A contaminação do leite por praguicidas aponta para a ausência de controle na produção leiteira, que permite a incorporação dessas substâncias ao leite, seja através da alimentação animal contaminada com esses resíduos ou de desrespeito aos períodos de carência na aplicação de medicamentos veterinários (Campos, 2004; Pagliuca et al., 2006; Cavaletti et al., 2008).

## 1.5 Análise estatística dos dados

As pesquisas de foco educacional têm nos dados qualitativos, sua principal fonte de informação. Tais dados raramente se encontram isolados, pelo contrário, normalmente possuem relações complexas que devem ser levadas em conta na pesquisa, gerando um grande montante de variáveis a serem tratadas e interpretadas. Para isso, é fundamental o emprego de métodos da análise multivariada e, pela complexidade dos processos, o uso de softwares estatísticos (Ianovski, 2010).

A análise multivariada de dados se refere a todos os métodos estatísticos que simultaneamente analisam múltiplas medidas de cada indivíduo ou objeto sob investigação (Carvalho, 2001). As peculiaridades dessa análise variam de acordo com o objetivo do estudo e com a natureza intrínseca dos dados ou variáveis, sejam esses quantitativos, qualitativos ou um conjunto misto (Minayo & Sanches, 1993).

Conforme reportado por Smith et al. (2002), a análise multivariada tem sido empregada em muitas áreas da ciência, notadamente nas áreas agrárias, para classificar e estabelecer relações de similaridade entre grande quantidade de variáveis e até mesmo casos, dentro de um espaço amostral. A representação gráfica tradicional dessa análise é um gráfico bidimensional (primeiro plano fatorial) que capturam maior proporção da variância explicada na amostra.

A Análise de Componentes Principais (ACP), Análise de Correspondências Múltiplas (ACM) e Análise de Classificação Hierárquica Ascendente (CHA) (pelo método de *Clusters*) definem variáveis de importância explicativa, as correlações entre variáveis e casos e forma tipologia com a finalidade de guiar análises de dados em uma realidade complexa (Landais, 1998).

Como ferramenta complementar, a análise de clusters é um procedimento multivariado para detectar grupos homogêneos nos dados, podendo os grupos serem constituídos por variáveis ou casos (Pestana & Gageiro, 2000). Esse procedimento tem por finalidade agrupar de forma hierárquica os dados, em complementação à ACM quando é necessário observar estrutura de agrupamento. A análise de clusters pretende organizar um conjunto de casos em grupos homogêneos, de tal modo que os indivíduos pertencentes a um grupo são os mais semelhantes possíveis entre si e diferenciados dos restantes (Tachibana, 2006).



## LITERATURA CITADA

- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [2005]. **Controlando agrotóxicos nos alimentos. Relatório de atividades 2001 – 2004**. Brasília. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/re\\_l\\_anual\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/re_l_anual_2004.pdf)>. Acesso em: 10 maio 2011.
- BAJALUK, S.A.B. Efeito de fatores ambientais sobre a produção de leite, percentagem de gordura e percentagem de proteína em vacas da raça Holandesa no Estado do Paraná. **Scientia Agraria**, v.1, p.83-95, 2000.
- BIEHL, M.L.; BUCK, W.B. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. **Journal of Food Protection**, v.50, p.1058-1073, 1987.
- BLOCK, E.; BURCHARD, J.F.; MONARDES, H.G. **Manual do curso de bovinos leiteiros**. Montreal: McGill University, 1995.
- BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: II SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa/Universidade Federal do Paraná, p.85-88, 2000.
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário. Departamento de Assistência Técnica e Extensão Rural. [2005]. **O uso de agrotóxicos no Brasil: dimensões e conseqüências**. Disponível em: <<http://www.pronaf.gov.br/dater/index.php?dmnid=61&scant=94&scid=458>>. Acesso em: 12 fev. 2011.
- CAMPOS, E.P. **Qualidade microbiológica, físico-química e pesquisa de resíduos de antibióticos e pesticidas no leite bovino produzido pelo sistema convencional e pelo sistema orgânico**. 2004. 69f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

- CARVALHO, L.A.V. **Datamining: A mineração de dados no marketing, medicina, economia, engenharia e administração**. 1.ed. São Paulo: Érica, 2001. 254p.
- CAVALETTI, L.C.S.; NETO, D.P.; SASSAHARA, M. et al. Resíduos de Organofosforados e Carbamatos em Leite de Propriedades Leiteiras do Paraná e de São Paulo. In: 35º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2008, Gramado. **Anais...** ExpoGramado, ID:17, 485-2.
- CODEX ALIMENTARIUS. **FAO/WHO Food Standards**. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net>>. Acesso em: 15 fev. 2011.
- COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Influencia de habitos alimentarios sobre las concentraciones de pesticidas organoclorados en tejido adiposo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, p.54-59, 2002.
- CAST – Council for Agricultural Science and Technology. **Mycotoxins: economic and health risks**. Ames, 1989. (Task Force Report no 116).
- COULOMBE, R.A. Symposium: Biological Action of Mycotoxins. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.880-891, 1993.
- CREPPY, E.E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. **Toxicology Letters**, v.127, p.19-28, 2002.
- DAMASCENO, J.C.; BOUNDERMÜLLER FILHO, A.; RAMOS, C. E. C. O. et al. O Papel do homem na gestão e controle de qualidade da produção de leite. In: SANTOS, G. T.; UHLIG, L.; BRANCO, A. F. et al. (Ed) **Inovação tecnológica na cadeia produtiva do leite e a sustentabilidade da pecuária leiteira**. 1.ed. Maringá:Eduem, 2008. 310p.
- DEIANA, P.; FATICHENTI, F. Pesticide residues in milk processing. **Italian Journal of Food Science**, v.4, p.229-245, 1992.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **“O Brasil no cenário Mundial de lácteos”**. Comunicado Técnico. Juiz de Fora. Embrapa Gado de Leite. 2006, v.51, 4p.
- EPA - Environmental Protection Agency. [2011]. **About Pesticides**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/pesticides/about/>>. Acesso em: 15 mar. 2011.
- EPA - Environmental Protection Agency. [2001]. **World and U.S. Pesticide Amount Used**. Disponível em: <[http://www.epa.gov/oppbead1/pestsales/01pestsales/market\\_estimates2001.pdf](http://www.epa.gov/oppbead1/pestsales/01pestsales/market_estimates2001.pdf)>. Acesso em: 15 jan. 2011.
- FAO – Food and Agriculture of the United Nations. [2009]. **Estatística FAO 2009**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 05 ago. 2011.
- FAGNAGI, R. **Resíduos de Carbamatos e Organofosforados em Leite e em Alimentação Animal de Propriedades Leiteiras do Agreste Pernambucano**.

2008. 48p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; McSWEENEY, P.L.H. **Fundamentals of cheese science**. New York: Aspen, 2000. 587p.
- GOLDBLATT, L.A. Aflatoxin: scientific background, control and implications. **Food Science and Technology**. New York: Academic Press, 472p. 1969.
- GONÇALEZ, E.; FELICIO, J.D.; PINTO, M.M. et al. Ocorrência de aflatoxina M<sub>1</sub> em leite comercializado em alguns municípios do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.72, p.435-438, 2005.
- GOURAMA, N.; BULLERMAN, L. B. Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus: Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: a review. **Journal of Food Protection**, v.58, p.1395-1404, 1995.
- HOSTIOU, N.; VEIGA, J.B.; TOURRAND, J.F. Dinâmica e evolução de sistemas familiares de produção leiteira em Uruará, frente de colonização da Amazônia brasileira. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.44, p.295-311, 2006.
- HUSSEIN, H.S.; BRASEL, J.M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**. v.167, p.101-134, 2001.
- IANOVSKI, J. **Análise Multivariada de Dados Qualitativos por Meio de Softwares Estatísticos**. Sinop, UNEMAT, 2010. 45p. (Licenciatura em Matemática)
- IARC – International Agency of Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**. Lyon: WHO, v.82, 2002.
- IPARDES – Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social-Convênio IPARDES/EMATER/SETI. **Caracterização socioeconômica da atividade leiteira no Paraná**. Curitiba: IPARDES, 2009. 187p.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Censo Agropecuário 2006**. Rio de Janeiro: IBGE, 2009. 777p.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Indicadores IBGE - Estatística da Produção Pecuária**. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 33p.
- JECFA – Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **Evaluation of certain mycotoxins in food: Fifty-sixty report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**. Geneva: WHO, 2002, 62p.
- JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade de seus produtos. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS

- CONSERVADAS, 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO, 2001, p.242-261.
- KAMKAR, A. A study on the occurrence of aflatoxina M<sub>1</sub> in raw milk produced in Sarab city of Iran. **Food Control**, v.16, p.593-599, 2005.
- KAN, C.A.; MEIJER, G.A.L. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. **Animal Feed Science and Technology**. v.133, p.84-108, 2007.
- LANDAIS, E. Modelling farm diversity, new approaches to typology building in France. **Agricultural Systems**. v.58, p.505-527, 1998.
- LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2.ed. Curitiba: Ed. do Autor, 1997.148p.
- MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIES, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.2765-3768, 2000.
- MAGALHÃES, H.R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V.L. et al. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.415-421, 2006.
- MALLMANN, C.A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos**. Santa Maria: Sociedade Vicente Pallotti, 2007. 238p.
- MARQUES, L.T.; BALBINOTTI, M.; FISHER, V. Variations in the milk chemical composition according to somatic cell count. In: PANAMERICAN CONGRESS ON MILK QUALITY AND MASTITIS CONTROL, 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: [s.n.], 2002.
- MASSUDA, E.M.; ALVES, A.F.; PARRÉ, J.L. et al. Panorama da cadeia produtiva do leite no Brasil. In: SANTOS, G. T.; MASSUDA, E.M.; KAZAMA, D.C.S. et al. (Ed.) **Bovinocultura Leiteira: Bases Zootécnicas, Fisiológicas e de Produção**. 1.ed. Maringá. Eduem, 2010. p.9-28.
- MELGAR, M.J.; SANTAEUFEMIA, M.; GARCIA, M.A. Organophosphorus pesticide residues in raw milk and infant formulas from Spanish northwest. **Journal of Environmental Science and Health**, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes. v.45, p. 595-600, 2010.
- MILKPOINT. [2010]. **Resultado Top 100, 2010**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: 15 jun. 2011.
- MINAYO, M. C. S.; SANCHES, O. **Quantitativo-Qualitativo: oposição ou complementaridade?** Cadernos de Saúde Pública. v.9, n.3, 1993, p.239-262.

- MOLIN, R. Ocorrência de micotoxinas em estágios fenológicos próximos da colheita de milho. In: SIMPÓSIO SOBRE MICOTOXINAS EM GRÃOS. **Anais...** São Paulo: Fundação Cargil, 1999. p.57-80.
- MOSS, M.O. Mycotoxin review: Aspergillus and Penicillium. **Mycologist**, v.16, p.116-119, 2002.
- NORO, G. **Fatores ambientais que afetam a produção e a qualidade do leite em rebanhos ligados a cooperativas gaúchas**. 2004. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- NORO, G.; GOZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R. et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1129-1135, 2006.
- OLIVEIRA, J.A.A.; CORREA, B.; CASTRILLON, A.L. et al. Occurrence of filamentous fungi and aflatoxins in poultry feedstuffs. **Revista Microbiol**, v.29, p.138-142, 1998.
- PAGLIUCA, G.; SERRAINO, A.; GAZZOTTI, T. et al. Organophosphorus pesticides residues in Italian raw milk. **Journal of Dairy Research**, v.73, p.1-5, 2006.
- PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F.; SARRÍES, G.A. Contagem de células somáticas e características produtivas de vacas da raça holandesa em lactação. **Scientia Agricola**, v.58, p.649-654, 2001.
- PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO E.P.; PRADO G. et al. Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais – Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, p.106-112, 2005.
- PESTANA, M.H.; GAGEIRO, J.N. **Análise de dados para Ciências Sociais: A complementaridade do SPSS**. 2.ed. Lisboa: Edições Silabo, 2000. 736p.
- PINHEIROS, S.L.G. O enfoque sistêmico e o desenvolvimento rural sustentável: uma oportunidade de mudança da abordagem hard-systems para experiências com soft-systems. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**. v.1, p.27-37, 2000.
- PITTET, A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an updated review. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.149, p.479-492, 1998.
- RIBAS, N.P.; MILAGRES, J.C.; GARCIA, J.A. Estudo da produção de leite e gordura em rebanhos holandeses da bacia leiteira de Castrolanda, Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.12, p.720-740, 1983.
- ROESHIG, L. **Análise das estratégias de alimentação de vacas leiteiras a partir das práticas adotadas pelo produtor**. 2006. 39f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- RUBÍ, J. C. M.; RODRÍGUES, F. Y.; BRETONES, F. L.; et al. Intoxicaciones por organofosforados. In: CEBRIÁN, J. G.; ROSETY, R. D. A.; COMA, M. J. et al.

- [1998]. **Princípios de Urgências, Emergências y Cuidados Críticos**. Disponível em: <<http://www.univet.edu/tratado/>>. Acesso em: 15 jan. 2011.
- SANTAEUFEMIA, M.; MELGAR, M. J.; CEPEDA, A. et al. Estudio de La contaminación por plaguicidas organofosforados y triazinas em leche procedente de diversas rutas de recogida. **Revista de Toxicologia**, v.23, p.7-10, 2006.
- SHUNDO, L.; NAVAS, S.A.; LAMARDO, L.C.A.; et al. Estimate of aflatoxin M<sub>1</sub> exposure in milk and occurrence in Brazil. **Food Control**, v.20, p.655-657, 2009.
- SILVA, L.C.C. **Resíduos de organoclorados, organofosforados e carbamatos em leite, água e alimentação animal**. 2008. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. [2003]. **Informações do setor: consumo mundial em 2003**. Disponível em: <[http://www.sindag.com.br/new/upload/inforsetor/consumo\\_mundial.xls](http://www.sindag.com.br/new/upload/inforsetor/consumo_mundial.xls)>. Acesso em: 14 mar. 2011.
- SMITH, R.R.; MOREIRA, L.V.H.; LATRILLE, L.L. Characterization of dairy productive systems in the Tenth Region of Chile using multivariate analysis. **Agricultura Técnica**, v.62, p.35-395, 2002.
- SOUZA, R. **Variação na produção e qualidade do leite de vacas da raça holandesa em função da estação do ano e ordem de parto**. 2008. 42f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- SWEENEY, M.J.; DOBSON, A.D.W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, v.43, p.141-158, 1998.
- TACHIBANA, V.M. **Análise Multivariada**. Apostila da disciplina de Análise Multivariada, Programa de Pós Graduação em Ciências Cartográficas. Universidade Estadual Paulista: Unesp, Presidente Prudente, 2006.
- TEIXEIRA, N.M.; FREITAS, A.F.; BARRA, R.B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.491-499, 2003.
- VELDMAN, A.; MEIJS, J.A.C.; BORGGREVE, G.J. et al. Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. **Animal Production**, n.55, p.163-168, 1992.
- VITAL, Ms. A. B. F. Agonistas e antagonistas colinérgicos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed.) **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.59-70.
- YOUSEF, A.E.; MARTH, E.H. Use of ultraviolet energy to degrade aflatoxin M<sub>1</sub> in raw or heated milk with and without added peroxide. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.2243-2247, 1985.

**WEIGEL, M. Avaliação da Contaminação por Aflatoxina M<sub>1</sub> em Leite Cru e Leite UHT.** 2007. 49f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

**WOLTER, R. Alimentation de la vache laitière.** Paris: France Agricole, 1997. 263p.

## OBJETIVO GERAL

O objetivo nesse estudo foi determinar a contaminação do leite por aflatoxinas e resíduos químicos de organofosforado e carbamato, possíveis origens destas contaminações e avaliar o comportamento da composição do leite nos diferentes grupos de sistemas intensivos de produção leiteira na região dos Campos Gerais.



## **I. Contaminação do Leite e Concentrados por Aflatoxinas e Resíduos de Organofosforados e Carbamatos**

**RESUMO:** A contaminação de leite por Aflatoxina M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) e por resíduos químicos de organofosforados (OF) e carbamatos (CB) é considerado um problema de saúde pública. O objetivo nesse estudo foi identificar esses contaminantes no leite e nos concentrados em 31 propriedades localizadas na região dos Campos Gerais no ano de 2009/2010. O leite foi analisado para AFM<sub>1</sub> por meio de um kit-imunoensaio ELISA competitivo Ridascren<sup>®</sup>, uma técnica quantitativa. Os concentrados e o leite foram analisados para OF e CB pelo método de cromatografia de camada delgada – CCD, uma técnica qualitativa, também foi utilizada para detectar a presença de Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> nos concentrados. Avaliou-se a associação entre AFM<sub>1</sub>, estação do ano e média de produtividade/vaca/ano. Apenas duas das 55 amostras de concentrados analisadas foram detectadas presença de Aflatoxina G<sub>1</sub> (3,2 e 3,6 µg.kg<sup>-1</sup>). AFM<sub>1</sub> foi detectada em 93,5% das 62 amostras analisadas com variação de 0,045 a 0,442 µg.L<sup>-1</sup>. Não houve diferença estatística (P>0,05) para as duas estações do ano (janeiro e julho de 2010). Das 31 amostras de leite, 71,0% apresentaram resíduo de OF, 19,4% resíduo de CB e 6,5% com ambos os contaminantes. Para as 52 amostras de concentrados, 30,7% foram positivas para OF, 11,7% para CB e 5,7% para ambos. Conclui-se que a contaminação nos alimentos dos animais e conseqüentemente no leite indicam a necessidade de adequação das práticas agrícolas e do manejo pecuário nas propriedades leiteiras.

**Palavras-chave:** bovinocultura de leite, contaminantes, segurança alimentar, sistema de produção

## **Milk and Concentrates Contamination by Aflatoxin and Residues of Organophosphate and Carbamate**

**ABSTRACT:** The contamination of milk by aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) and chemical residues of organophosphates (OP) and carbamate (CB) is considered a public health problem. The aim of this study was to identify those contaminants in milk and concentrates from 31 dairy herds located in the Campos Gerais region in the year of 2009/2010. The milk was analyzed for AFM<sub>1</sub> through a competitive ELISA immunoassay kit-Ridascreen<sup>®</sup>, a quantitative technique. Concentrate and milk samples were analyzed for OF and CB by the method of thin layer chromatography - CCD, a qualitative technique, also used to detect the presence of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> on concentrates. It was evaluated the association between AFM<sub>1</sub>, season and average yield/cow/year. Only two of the 55 samples analyzed were positive for Aflatoxin G<sub>1</sub> (3.2 and 3.6 µg.kg<sup>-1</sup>). AFM<sub>1</sub> was detected in 93.5% of 62 samples ranging from 0.045 to 0.442 µg.L<sup>-1</sup>. There was no statistical difference (P>0.05) between two seasons (January and July 2010). Of the 31 milk samples 71.0% had residual OF, 19.4% residue of CB, and 6.5% with both contaminants. For 52 samples of concentrates, 30.7% were positive for OF, 11.7% for CB and 5.7% for both. It is concluded that the contamination in food animals and therefore in the milk indicates the need to adapt farming practices.

**Key words:** contaminants, dairy cattle, food safety, production system

## Introdução

No Brasil, a produção e o consumo de leite e outros produtos lácteos têm crescido a cada ano (Embrapa, 2006). Ao mesmo tempo, aumentam as preocupações com a qualidade e a segurança do leite. Alguns riscos associados a este produto podem ser eliminados pelos tratamentos térmicos, mas outros precisam ser prevenidos ou controlados por procedimentos adequados, desde o manejo com o animal até o armazenamento (Weigel, 2007).

Em qualquer exploração pecuária o produtor deve buscar não só altos índices de produtividade, como também a qualidade do produto. Isto se torna mais evidente no momento em que o mundo globalizado exige produtos de qualidade, e o consumidor adquiriu consciência da necessidade de consumir produtos de origem animal com segurança da qualidade higiênica-sanitária (Jobim et al., 2001).

O leite deve ser produzido sob o ponto de vista sanitário e tecnológico de forma a garantir a manutenção das suas características nutritivas e obedecer aos necessários aspectos higiênicos. A Instrução Normativa Nº 51 (IN51), juntamente com o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCR – MAPA) determina as normas na produção e qualidade do leite pasteurizado e cru refrigerado, bem como o controle de resíduos de grande importância em saúde pública (Brasil, 1999; Brasil, 2002).

A presença de contaminantes nos alimentos dos animais (volumosos e concentrados), através de práticas de manejo incorreto, uso indiscriminado de produtos veterinários e agrícolas, inadequado acondicionamento de rações, subprodutos e forragens (fenos, silagens e pré-secados), manejo incorreto da colheita até o armazenamento dos grãos, poderão transmitir ao produto final, o leite, contaminantes e resíduos indesejados.

A contaminação do leite por Aflatoxina M<sub>1</sub>, resíduos químicos de organofosforados e carbamatos é consequência das práticas de manejo pecuário e agrícola incorreto, no qual esses contaminantes terão maior importância no mercado brasileiro, tanto para as indústrias quanto para os consumidores, conforme maior exigência dos mercados nacionais e internacionais.

O objetivo neste trabalho foram identificar a presença de Aflatoxinas, resíduos de organofosforado e carbamato nos concentrados e no leite de produtores da região dos Campos Gerais do Estado do Paraná.

## **Materiais e métodos**

Com o intuito de representar a bacia leiteira da região dos Campos Gerais foram selecionadas 32 propriedades em sistema de confinamento ou semiconfinamento da cidade de Arapoti. A base da alimentação dos animais lactantes era silagem de milho, pré-secados (aveia ou azevém), ração comercial, farelo de soja, caroço de algodão, polpa cítrica, casca de soja e grão de milho moído.

O estudo foi realizado em dois períodos distintos: janeiro e julho de 2010. Quatro amostras de leite de cada propriedade foram colhidas de tanque de expansão e acondicionadas, durante o transporte, em ambiente isotérmico com gelo reciclável e em seguida congeladas a -20°C em freezer até a realização das análises dos contaminantes.

As amostras dos concentrados (ração comercial, farelo de soja, caroço de algodão, polpa cítrica, grão de milho moído, trigoilho e resíduo de cervejaria) utilizados em cada propriedade foram colhidas no mesmo período e também acondicionadas em freezer até a realização das análises dos contaminantes.

Duas amostras de leite de cada propriedade e todas as amostras de concentrados foram encaminhadas para análise de contaminantes no Laboratório de Toxicologia Veterinária da Universidade Estadual de Londrina. Para a realização das análises de resíduos de carbamatos e organofosforados nos concentrados e leite foi a cromatografia de camada delgada – CCD com coloração em Rodamina e P-nitroanilina, uma técnica qualitativa descrita em AOAC (2003).

Para detecção de micotoxinas, utilizou-se a CCD, descrita por Soares & Rodriguez-Amaya (1989) adaptado de Gimeno (1983). Os padrões e concentrações ( $\mu\text{g/mL}$ ) utilizados foram AFB<sub>1</sub> (2,55), AFB<sub>2</sub> (2,62), AFG<sub>1</sub> (2,45), AFG<sub>2</sub> (4,55) e Ocratoxina A (143,05) (Sigma Inc. - EUA), conforme metodologia da AOAC, (1995). Os limites de detecção do método foram 2 e 5  $\mu\text{g/Kg}$  e os limites de determinação foram de 4 e 10  $\mu\text{g/Kg}$  para aflatoxina e ocratoxina, respectivamente.

Na extração do soro do leite, os potes plásticos de 20 mL, contendo as amostras, foram descongelados em banho-maria a 40°C por 30 minutos e imediatamente centrifugados em centrífuga refrigerada Fahren® a 10°C durante 10 minutos a uma rotação de 6700 RPM. Posteriormente, foram retiradas alíquotas da fase intermediária, depois de removida a matéria graxa sobrenadante, e depositadas com pipeta em

recipientes eppendorf sendo acondicionadas em refrigerador e identificadas para análise subsequente.

As outras duas amostras de leite foram submetidas à extração do soro para leitura de Aflatoxina M<sub>1</sub> no Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal da Universidade Estadual de Maringá. As amostras foram analisadas, em duplicata, com o kit imunoenzimático Ridascreen®Fast Aflatoxin M<sub>1</sub>, R-biopharm®. Este, composto por um suporte para os “poços”, recobertos com anticorpos anti-IgG, cinco soluções-padrão de AFM<sub>1</sub> (de 0, 250, 500, 1000 e 2000 ppt), contendo anticorpo IgG policlonal anti-AFM<sub>1</sub>, conjugado, cromógeno e solução bloqueadora de acordo com o protocolo descrito no manual.

A leitura foi realizada utilizando espectrofotômetro, em comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 450 nm e o resultado expresso pela média dos valores observados para cada duplicata. As absorbâncias foram calculadas para cada observação segundo:

$$A\lambda = \left( \frac{A_i}{A_{0ppt}} \right) \cdot 100$$

Em que:

$A$  = absorbância para  $\lambda$  de 450 nm;

$A_{0ppt}$  = absorbância para o padrão 0 (0 ppt de AFM<sub>1</sub>);

$A_i$  = absorbância observada para cada amostra (de  $i$  até  $n$ ).

Os valores de absorbância obtidos (em %) para cada observação foram convertidos em concentração (ppt) pela curva padrão, parametrizada a cada ensaio, fornecida pelo software Softmax-pro®, versão 5.4. O protocolo de análise desenvolvido foi para ensaios de imunoafinidade competitiva (ELISA), lidos no “*endpoint*” de cada reação com base no protocolo para melamina (Softmax-pro 5.4).

Para avaliar a associação entre AFM<sub>1</sub>, estação do ano e média de produtividade/vaca/ano foi utilizado a análise de regressão pelo procedimento de modelos lineares generalizados (GLM) para distribuição gamma, do pacote do software R2.12.2. Segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + Pr_j + PPr_{ij} + e_{ijk}$$

Em que:

$Y$  = observação associada à Período  $i$  para a Produtividade  $j$ ;

$\mu$  = constante geral, representando a média das observações;

$P$  = período, com  $i$  variando de 1 até 2;

$Pr$  = produtividade, com  $j$  variando de 17,5 a 34,6;

$PPr$  = interação entre período  $i$  e produtividade  $j$ ;

$e$  = erro aleatório associado às observações.

Os dados obtidos para resíduos de organofosforados e carbamatos foram submetidos à análise estatística descritiva utilizando o MS Excel, seguido da análise dos dados e descrição dos resultados.

## **Resultados e discussão**

### **Aflatoxinas**

Nas 22 amostras de ração comercial analisadas, não foram detectadas a presença de aflatoxinas  $B_1$ ,  $B_2$  e  $G_2$ . Apenas duas amostras apresentaram aflatoxina  $G_1$  com valores de 3,2 e 3,6  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  (Tabela 3). Silva et al. (1996) no Distrito Federal e Oliveira et al. (1998) em Manaus também não observaram presença de aflatoxinas em amostras de ração comercial.

Ao contrário dos resultados observados neste trabalho, Sassahara et al. (2005) verificaram a presença de  $\text{AFB}_1$  em 7 (25%) das 27 amostras de ração comercial analisadas em municípios do norte do Paraná. Sassahara et al. (2003) evidenciaram a contaminação por aflatoxinas em 13,6% das 272 amostras de produtos destinados à alimentação de bovinos leiteiros no Paraná. Sabino et al. (1988) sobre a análise de  $\text{AFB}_1$  em 308 amostras de rações, durante o período de 1980 a 1987, revelaram a presença dessa toxina em 10,39% das amostras, sendo, com média de 241,2  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ .

Tabela 3 – Análises de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> em concentrados de propriedades leiteiras da cidade de Arapoti

Concentrados	Nº de amostras	Aflatoxinas (µg.Kg <sup>-1</sup> )			
		AFB <sub>1</sub>	AFB <sub>2</sub>	AFG <sub>1</sub>	AFG <sub>2</sub>
Ração comercial	22	nd	nd	3,4*	nd
Farelo de soja	14	nd	nd	nd	nd
Caroço de algodão	6	nd	nd	nd	nd
Grão de milho moído	5	nd	nd	nd	nd
Polpa cítrica	5	nd	nd	nd	nd
Triguilho	1	nd	nd	nd	nd
Resíduo de cervejaria	2	nd	nd	nd	nd

\* Média das duas amostras positivas: 3,2 e 3,6 µg.Kg<sup>-1</sup>

nd: não detectado

Nas amostras de farelo de soja, caroço de algodão, polpa cítrica, milho fubá, triguilho e resíduo de cervejaria não foram detectados aflatoxinas. Ao contrário, Santurio et al. (1988), analisando 74 amostras de alimentos para consumo animal proveniente de 27 municípios dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, observaram a ocorrência de AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub> + AFB<sub>2</sub> e AFG<sub>1</sub>, respectivamente em 16,22%, 5,41% e 4,05% das amostras analisadas.

As amostras de leite colhidas em propriedades que variaram em produção de leite de 800 a 10.000 L/dia apresentaram níveis detectáveis de aflatoxina M<sub>1</sub>. A Tabela 4 destaca a produtividade das propriedades com variação de 17,5 a 34,6 L/vaca/dia e a presença de aflatoxina M<sub>1</sub> em duas coletas distintas.

Observa-se que das 62 amostras analisadas, 93,5% apresentaram níveis detectáveis de AFM<sub>1</sub> que variaram de 0,045 a 0,442 µg.L<sup>-1</sup>. Semelhante aos níveis observados por Shundo & Sabino (2006), os quais avaliaram em 107 amostras de leite, e observaram em 73,8% destas, presença de AFM<sub>1</sub> com níveis variando entre 0,02 a 0,26 µg.L<sup>-1</sup>. Sabino et al. (1989) e Sassahara et al. (2005) obtiveram 18% e 24% de amostras positivas de leite colhidas em fazendas do Estado do Paraná, respectivamente.

Tabela 4 – Dados de produtividade e valores de aflatoxina M<sub>1</sub> nos dois períodos de coletas

Propriedade	Prod. média anual L/vaca/dia	Aflatoxina M <sub>1</sub> ( µg.L <sup>-1</sup> )		Média ± DP*
		C1	C2	
1	30,0	0,153	0,092	0,123 ± 0,043
3	32,3	0,070	0,099	0,085 ± 0,020
4	33,0	nd	0,419	0,419 ± -
5	28,1	0,195	0,222	0,209 ± 0,019
6	32,9	0,405	0,094	0,249 ± 0,220
7	28,6	0,169	0,091	0,130 ± 0,055
8	29,0	0,372	0,082	0,227 ± 0,205
9	32,1	0,093	0,093	0,093 ± 0,000
10	17,5	nd	0,294	0,294 ± -
11	22,8	0,357	0,045	0,201 ± 0,221
12	29,1	0,246	0,091	0,169 ± 0,110
13	26,3	0,277	0,383	0,330 ± 0,075
14	32,2	0,377	0,045	0,211 ± 0,235
15	29,0	0,309	0,295	0,302 ± 0,010
16	29,1	0,131	0,283	0,207 ± 0,107
17	30,5	nd	0,308	0,308 ± -
18	31,0	0,092	0,093	0,093 ± 0,001
19	26,7	0,169	0,093	0,131 ± 0,054
20	27,1	0,204	0,280	0,242 ± 0,054
21	19,2	0,189	0,166	0,177 ± 0,016
22	28,8	0,257	0,442	0,349 ± 0,131
23	22,3	0,253	0,068	0,160 ± 0,131
24	24,9	0,232	0,308	0,270 ± 0,053
25	34,6	0,143	0,092	0,118 ± 0,036
26	30,1	0,217	0,238	0,227 ± 0,014
27	25,1	nd	0,175	0,175 ± -
28	27,0	0,189	0,093	0,141 ± 0,067
29	30,0	0,255	0,093	0,174 ± 0,115
30	32,6	0,288	0,092	0,190 ± 0,139
31	28,1	0,180	0,181	0,180 ± 0,001
Média	28,3	0,224	0,178	0,206

C1 = coleta em janeiro de 2010

C2 = coleta em julho de 2010

\* Média e Desvio Padrão das duas coletas (C1 e C2)

nd: não detectado

Na Figura 3, observa-se que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre as duas estações do ano: janeiro (A) e julho (B), visto que as duas amplitudes de variação estão próximas entre si. No entanto, alguns estudos têm demonstrado uma tendência sazonal na contaminação do leite por AFM<sub>1</sub>, e a maior incidência ocorre geralmente



durante o inverno, quando os animais são alimentados com maior volume de concentrados (Patterson et al.,1980; Galvano et al., 1996; Kamkar, 2005; Oliveira et al. 2010). Situação não constatada nesse estudo, visto que a alimentação desses rebanhos se mantém constante ao longo do ano.

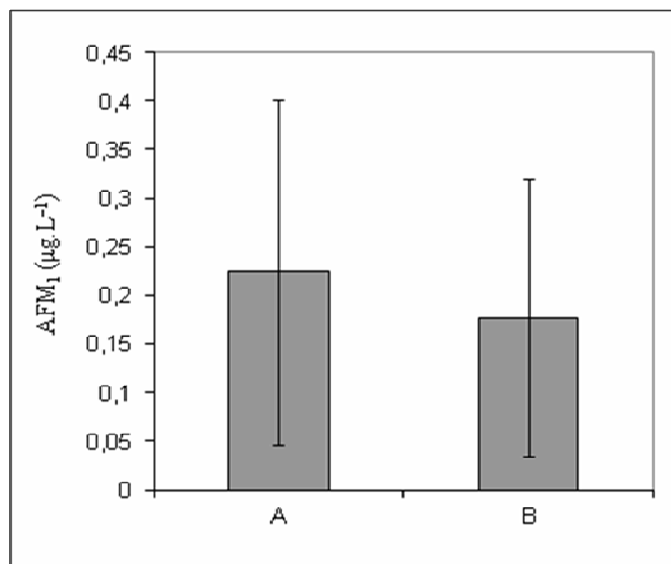


Figura 3 – Contaminação por AFM<sub>1</sub> nos dois períodos: janeiro (A) e julho (B) de acordo com GLM

Os valores de aflatoxina M<sub>1</sub> dos dois períodos de coleta (C1: janeiro e C2: julho) e o limite máximo tolerável (LMT) dessa aflatoxina para o Brasil, Estados Unidos (FDA) e União Europeia (UE) estão distribuídos na Figura 4. Nota-se que, tanto amostras da C1 quanto amostras da C2 tiveram valores abaixo do LMT para legislação brasileira e americana (0,5 µg.L<sup>-1</sup>). Gonzalez et al. (2005) em 43 amostras analisadas, 17 estavam contaminadas, sendo que 11 (64,7%) delas com concentrações acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira.

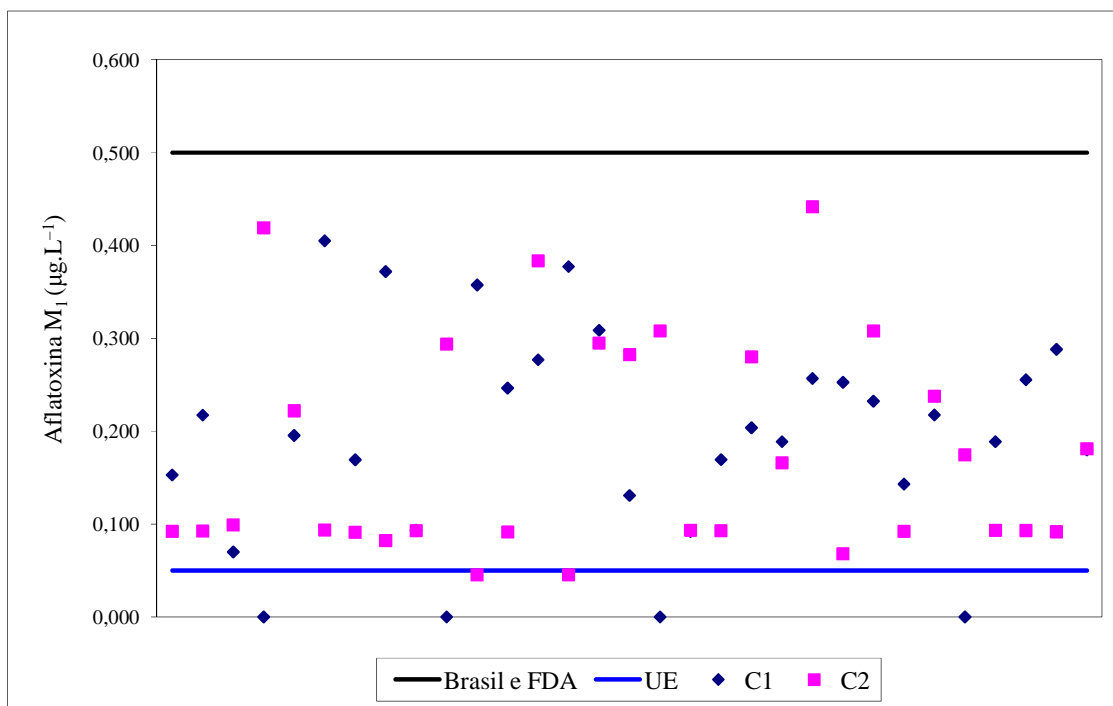


Figura 4 – Distribuição dos valores de aflatoxina  $M_1$  e o limite máximo tolerável para Brasil, Food and Drug Administration (FDA) e União Europeia (UE)

A contaminação abaixo do LMT para legislação da UE ( $0,05 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) foi de apenas 6 (9,67%) amostras, ou seja, 90,33% das amostras analisadas estariam impróprias para exportação para UE. Na região de São Carlos – SP, Oliveira et al. (2010) obtiveram 20% das amostras acima do LMT pela legislação da UE. Como o processamento do leite, por meio da pasteurização ou upeirização, não destrói a aflatoxina  $M_1$  (Goldblatt, 1969) devem-se tomar as devidas precauções para que o nível de  $AFM_1$  no leite seja reduzido ao máximo.

A aplicação de boas práticas de colheita (umidade adequada do grão e tecnologia) e armazenamento (micro-clima) das matérias-primas são os métodos mais eficientes para controlar a contaminação por aflatoxinas. Além de bom manejo alimentar do dia a dia, como: estocagem das matérias-primas e rações na propriedade e manejo das silagens (ensilagem, desensilagem e fornecimento).

A importância do setor lácteo brasileiro, frente ao mercado internacional, exigirá dos produtores, indústrias, instituições de pesquisa e dos governantes uma consciência de sustentabilidade, ou seja, fazer com que o setor lácteo se desenvolva com vantagens competitivas mantendo os elos de produção em sincronia e assim buscar mercados mais interessantes financeiramente.

## Organofosforado e Carbamatos

Na Figura 5, observou-se que 71,0% do leite analisado havia presença de resíduo de organofosforados, 19,4% das amostras com presença de carbamatos e 6,5% contaminados com ambos os grupos químicos.

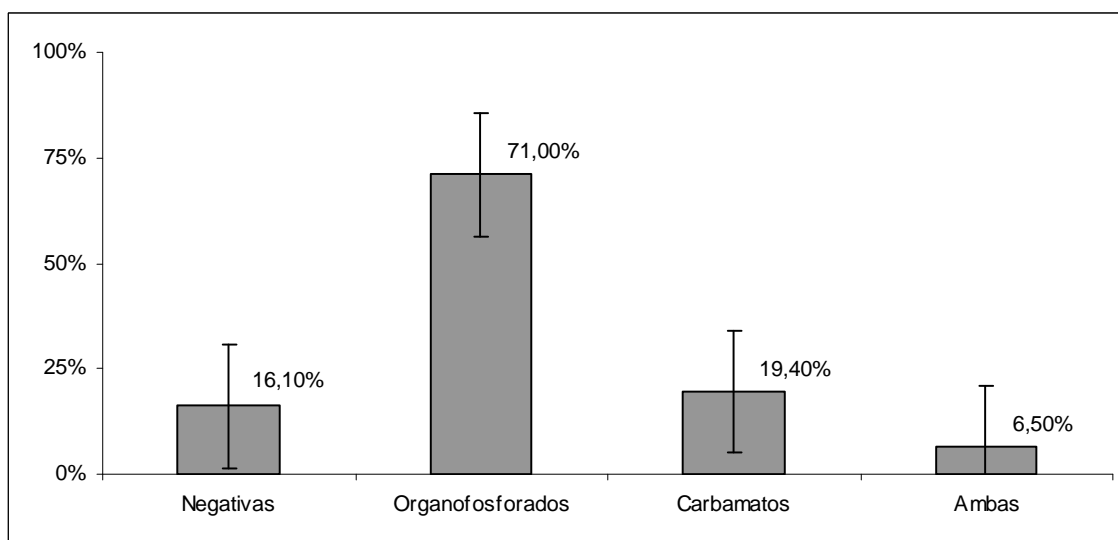


Figura 5 – Frequência de resíduo de Organofosforado (OF) e Carbamato (CB) em amostras de leite da região dos Campos Gerais

O resultado obtido nesta pesquisa condiz com os resultados observados por outros pesquisadores (Campos, 2004, Nero et al. 2004, Moraes, 2005) que obtiveram alto nível de contaminação, principalmente para resíduo de organofosforados. Ao contrário dos resultados observados por Melgar et al. (2010) que detectaram presença de organofosforado em apenas 8,67% das amostras de leite cru. Além dos trabalhos brasileiros, o problema da presença de resíduo químico no leite é observado em nível mundial (Salas et al., 2003, Pacliuca et al., 2006, Santaefemia et al., 2006).

Na Tabela 5, observa-se contaminação de 36,4% das amostras de ração comercial, 42,9% das amostras de farelo de soja e 40,0% das amostras de milho fubá com organofosforados. Em partes, podemos atribuir a contaminação da ração comercial com organofosforados aos dois principais ingredientes da sua composição, farelo de soja e milho fubá, apesar deste último contribuir com um número relativamente baixo de amostra analisada. Silva (2008) também relatou que entre os alimentos mais comumente contaminados estão concentrado comercial e alimentos contendo soja e milho.

Tabela 5 – Análises de organofosforados (OF) e carbamatos (CB) em amostras de concentrados fornecidos para animais em lactação

Ingredientes	N° de amostras	Negativo	OF	CB	OF e CB
Ração comercial	22	12 (55,5%)	8 (36,4%)	2 (9,1%)	1 (4,5%)
Farelo de soja	14	6 (42,8%)	6 (42,9%)	2 (14,2%)	2 (14,3%)
Caroço de algodão	6	6 (100%)	nd	nd	nd
Milho fubá	5	3 (60%)	2 (40,0%)	nd	nd
Polpa cítrica	5	3 (60%)	nd	2 (40,0%)	nd
Total de amostras	52	30 (57,6%)	16 (30,7%)	6 (11,7%)	3 (5,7%)

nd: não detectado

Do total de 52 amostras de alimentos analisados, 42,3% apresentaram resíduos, sendo 30,7% positivas para OF, 11,7% para CB e 5,7% para ambos os contaminantes. A frequência de contaminação foi semelhante a observada por Fagnani (2008), o qual avaliou 48 amostras de alimentos e observou 45,83% de amostras contaminadas, sendo 31,25% positivas para OF, 12,50% para CB e 2,08% para ambos os praguicidas. Silva (2008) avaliando 98 amostras verificou que 68,36% apresentaram resíduos, dessas 35,71% continham resíduo de OF, 31,63% de CB e 1,02% das amostras com ambos os praguicidas. Nos Estados do Paraná e São Paulo, Cavalleti et al. (2008) detectaram resíduo de OF em 28,57% das amostras, 18,37% de CB e 1,02% de ambos.

A transferência da contaminação presente na alimentação animal para o leite é influenciada pela quantidade ingerida, absorção, metabolismo e excreção do praguicida pelos animais em produção (Kan & Meijer, 2007). Essa contaminação aponta para a ausência de controle na produção leiteira, que permite a incorporação dessas substâncias ao leite, seja através da alimentação animal contaminada com esses resíduos ou desrespeito aos períodos de carência na aplicação de medicamentos veterinários.

## Conclusão

Constatou-se baixa contaminação por aflatoxinas nos concentrados e alta contaminação por AFM<sub>1</sub> no leite, porém essa contaminação abaixo do limite máximo tolerável pela legislação brasileira (0,5 µg.L<sup>-1</sup>).

As amostras de leite e concentrados apresentaram resíduos de organofosforado e carbamato, principalmente organofosforados e para saber a importância dessa contaminação é necessário identificar e quantificar esses resíduos.

**Literatura citada**

- AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17ed. Gaithersburg: AOAC International, 2003. 141 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa nº. 42 de 20 de dezembro de 1999**. Brasília, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamentos Técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. **Instrução Normativa nº 51, de 18 de Setembro de 2002**. Brasília, 2002.
- CAMPOS, E.P. **Qualidade microbiológica, físico-química e pesquisa de resíduos de antibióticos e pesticidas no leite bovino produzido pelo sistema convencional e pelo sistema orgânico**. 2004. 69f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.
- CAVALETTI, L.C.S.; NETO, D.P.; SASSAHARA, M. et al. Resíduos de Organofosforados e Carbamatos em Leite de Propriedades Leiteiras do Paraná e de São Paulo. In: 35º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2008, Gramado. **Anais...** ExpoGramado, ID:17, 485-2.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **“O Brasil no cenário Mundial de lácteos”**. Comunicado Técnico. Juiz de Fora. Embrapa Gado de Leite. 2006, v.51, 4p.
- FAGNAGI, R. **Resíduos de Carbamatos e Organofosforados em Leite e em Alimentação Animal de Propriedades Leiteiras do Agreste Pernambucano**. 2008. 48p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- GALVANO, F.; GALOFARO, V.; GALVANO, G. Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in Milk and milk products: a worldwide review. **Journal of Food Protec.** v.59, p.1079-1090, 1996.
- GONÇALEZ, E.; FELICIO, J.D.; PINTO, M.M. et al. Ocorrência de aflatoxina M<sub>1</sub> em leite comercializado em alguns municípios do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.72, p.435-438, 2005.
- JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade de seus produtos. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO, 2001, p.242-261.
- KAMKAR, A. A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk produced in Sarab city of Iran. **Food Control**, v.16, p.593-599, 2005.

- KAN, C.A.; MEIJER, G.A.L. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. **Animal Feed Science and Technology**. v.133, p.84-108, 2007.
- MELGAR, M.J.; SANTAEUFEMIA, M.; GARCIA, M.A. Organophosphorus pesticide residues in raw milk and infant formulas from Spanish northwest. **Journal of Environmental Science and Health**, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes. v.45, p. 595-600, 2010.
- MORAES, L.B. **Estafilococos coagulase positivos, microrganismos indicadores e resíduos químicos em leite de propriedades leiteiras da microrregião de Londrina/PR e Pelotas/RS**. 2005. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V. et al. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of Salmonella spp, Listeria monocytogenes and chemical residues. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.35, p.211-215, 2004.
- OLIVEIRA, J.A.A.; CORREA, B.; CASTRILLON, A.L. et al. Occurrence of filamentous fungi and aflatoxins in poultry feedstuffs. **Revista Microbiol**, v.29, p.138-142, 1998.
- OLIVEIRA, M.S. **Validação de metodologia analítica para análise de Aflatoxina M<sub>1</sub> e sua ocorrência em leite de bovino comercializado no Sul do Brasil**. 2010. 107f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- PAGLIUCA, G.; SERRAINO, A.; GAZZOTTI, T. et al. Organophosphorus pesticides residues in Italian raw milk. **Journal of Dairy Research**, v.73, p.1-5, 2006.
- PATTERSON, D.S.P.; GLANCY, E.M.; ROBERTS, B.A. The “carry over” of aflatoxin M<sub>1</sub> into the Milk of cows fed rations containing a low concentration of aflatoxin B<sub>1</sub>. **Food Cosmetic Toxicology**, v.18, p.35-37, 1980.
- SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I., et al. Ocorrência de aflatoxina B<sub>1</sub> em produtos alimentícios e rações animais consumidos no estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.48, p.81-85, 1988.
- SALAS, J.H.; GONZÁLEZ, M.M.; NOA, M. et al. Organophosphorus Pesticide Residues in Mexican Commercial Pasteurized Milk. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.51, p.4468-4471, 2003.
- SANTAEUFEMIA, M.; MELGAR, M. J.; CEPEDA, A. et al. Estudio de La contaminación por plaguicidas organofosforados y triazinas em leche procedente de diversas rutas de recogida. **Revista de Toxicologia**, v.23, p.7-10, 2006.
- SANTURIO, J.M.; BALDISSERA, M.A.; SILVA, J.B. et al. Detecção de aflatoxinas em rações para consumo animal: resultados de 1987. **Revista Centro de Ciências Rurais**, v.18, p.169-175, 1988.

- SASSAHARA, M.; YANAKA, E.K.; NETTO, D.P. Ocorrência de aflatoxina e zearalenona em alimentos destinados ao gado leiteiro na região Norte do Estado do Paraná. **Semina**, v.24, p.63-72, 2003.
- SASSAHARA, M.; NETTO, D.P.; YANAKA, E.K. Aflatoxin occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M1 in raw milk in the north of Paraná state. **Food Chemical Toxicology**, v.43, p.981-984, 2005.
- SILVA, S.C.; OLIVEIRA, J.N.; CALDAS, E.D. Aflatoxinas em alimentos comercializados no Distrito Federal de 1985 a 1995. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.56, p.49-52, 1996.
- SILVA, L.C.C. **Resíduos de organoclorados, organofosforados e carbamatos em leite, água e alimentação animal**. 2008. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- SHUNDO, L.; SABINO, M. Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.37, p.164-167, 2006.
- SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v.72, p.22-26, 1989.
- WEIGEL, M. **Avaliação da Contaminação por Aflatoxina M<sub>1</sub> em Leite Cru e Leite UHT**. 2007. 49f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

## **II. Agrupamento dos Sistemas Intensivos de Produção de Leite e Avaliação do Comportamento da Composição do Leite nesses Sistemas**

**RESUMO:** A complexidade do sistema de produção leiteiro exigirá do produtor maior planejamento estratégico e maior eficiência para obter um produto final de qualidade. O objetivo nesse estudo consistiu em identificar e agrupar as propriedades leiteiras conforme os dados zootécnicos, sistema de produção e composição do leite e avaliar o comportamento da composição do leite de cada grupo. Avaliaram 26 controles leiteiros oficiais de produtores da região dos Campos Gerais e informações do sistema de produção. A partir dos dados colhidos foi aplicado o método de seleção das variáveis, por meio da Análise de Correspondências Múltiplas (ACM) e Análise de Classificação Hierárquica Ascendente (CHA). Realizou-se o método de agrupamento dos clusters através da distância euclidiana como critério de separação dos grupos, em seguida a análise de regressão considerando a covariável ordem de parto. Através da análise ACM, explicou-se a interferência do estágio de lactação na saúde da glândula mamária e o impacto do manejo alimentar e ordem de lactação nos componentes do leite. Através da análise de regressão foi notado semelhança no comportamento dos componentes do leite nos diferentes Sistemas de Produção Leiteira: aumento de produção de leite e escore de células somáticas com o avançar da ordem de lactação, queda na porcentagem de proteína, lactose e sólidos totais e pouca variação na porcentagem gordura com aumento da ordem de lactação.

**Palavras-chave:** glândula mamária, grupos, leite e ordem de lactação



## **Grouping of milk Production Intensive Systems and evaluation of the behavior of the milk composition in such systems**

**ABSTRACT:** The complexity of the production system will require dairy producer's strategic planning and greater efficiency for a final product with quality. The aim of this study is to identify to group dairy farms considering the production data system and milk composition and to evaluate the behavior of the milk composition from each group. It was evaluated 26 official milk recording data from 26 dairy farms and production systems of the Campos Gerais and information production system. From the data collected it was applied the method of selection of variables through the Multiple Correspondence Analysis (MCA) and Analysis of Ascending Hierarchical Classification (AHC). It was carried out the method of grouping the clusters by euclidean distance as a criterion for separation of groups, then regression analysis considering the covariate lactation number. The MCA explained by analyzing the interference to the lactating mammary gland health and the impact of feed management and lactation order on milk components. Through regression analysis it was noted similarities in the behavior of milk components in different Dairy Production Systems: increased milk production and somatic cell score with advancing lactation order, drop in the percentage of protein, lactose and total solids and little variation of the fat percentage with increased lactation order.

**Key words:** groups, lactation order, mammary gland and milk

## **Introdução**

O sistema é definido como um conjunto de componentes inter-relacionados e organizados dentro de uma estrutura autônoma, operando de acordo com objetivos determinados. Sistemas são sensíveis ao meio ambiente com o qual interagem, apresentando geralmente variáveis, dinâmicos e imprevisíveis (Pinheiros, 2000). A interação entre esses componentes simula a complexidade do sistema de produção leiteiro, visto que as condições diversas será um desafio e exigirá do produtor maior planejamento estratégico.

O conceito de sistema de produção definido por Barioni (2003), refere-se a uma estrutura que se organiza com base em conjuntos de unidade inter-relacionáveis, isto é, um conjunto organizado de componentes que, por meio de interação, reage como um todo a um estímulo externo.

Para gestão do sistema, o produtor mobiliza informações de diferentes fontes e utiliza ferramentas para definir as ações de longo, médio e curto prazo (estratégia, tática e operacional, respectivamente). Ressalta-se que o maior enfoque seria o operacional, sendo que a estratégia e tática são pensadas de forma empírica, muitas vezes seguindo uma tradição familiar para projetar o futuro e reagir às adversidades e/ou oportunidades (econômicas, climáticas e sociais) (Damasceno, 2008).

Segundo Smith et al. (2002), um dos motivos para o estudo, de grupos homogêneos de sistemas de produção é a compreensão mais profunda em termos de eficiência produtiva, custos, eficiência técnica e econômica dos sistemas, sem precisar recorrer a estudos de casos individuais, geralmente bastante onerosos, demandando muito tempo.

A gestão zootécnica eficiente do sistema de produção leiteiro resultará em um produto final de alta qualidade, certamente valorizado por algumas indústrias e exigido pelo mercado consumidor. Dürr (2004) destaca que o conhecimento da composição do leite é essencial para a determinação de sua qualidade, porque define diversas propriedades organolépticas e industriais. Os parâmetros de qualidade são cada vez mais utilizados para detecção de falhas nas práticas de manejo, servindo como referência na valorização da matéria-prima.

O objetivo nesse trabalho consistiu em identificar e agrupar as propriedades leiteiras conforme os dados zootécnicos, sistema de produção e composição do leite e avaliar o comportamento da composição do leite de cada grupo (clusters).

## Material e métodos

Este estudo foi realizado em 26 propriedades leiteiras situadas na região dos Campos Gerais e o período de estudo foi de janeiro a dezembro de 2010. Os dados da produção e composição do leite dos 45.343 animais foram obtidos através de controle leiteiro oficial realizado pela Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (Curitiba – PR). As informações do sistema de produção da propriedade foram colhidas diretamente com o proprietário.

A partir dos dados colhidos foi realizado o método de seleção das variáveis (Tabela 6), por meio da Análise de Correspondências Múltiplas (ACM) e Análise de Classificação Hierárquica Ascendente (CHA). Foram mantidas as variáveis que obtiveram os maiores escores de contribuição dados em termos de variância explicada (Kubrusly, 2001).

Tabela 6 – Relação das variáveis de eleição submetidas à Análise de Correspondências Múltiplas e seus níveis de ocorrência

Variáveis	Níveis de cada variável e descrição
<b>Composição do leite</b>	
Volume de leite (litros)	1 = <24,34; 2 = entre 24,35 e 32,68; 3 = entre 32,69 e 41,1
Leite corrigido para 3,5%G	1 = <23,7; 2 = entre 23,8 e 31,4; 3 = entre 31,5 e 41,1
% de gordura	1 = <3,04; 2 = entre 3,05 e 3,66; 3 = entre 3,67 e 4,0
% de proteína	1 = <3,13; 2 = entre 3,14 e 3,34; 3 = entre 3,35 e 4,0
% de lactose	1 = <4,47; 2 = entre 4,48 e 4,61; 3 = entre 4,62 e 4,75
% de sólidos totais	1 = <11,67; 2 = entre 11,68 e 12,25; 3 = entre 12,26 e 12,82
CCS log	1 = <2,28; 2 = entre 2,29 e 2,70; 3 = entre 2,71 e 3,12
<b>Dados Zootécnicos</b>	
Número de lactações	1 = uma lactação; 2 = duas lactações; 3 = três lactações
Estádio de lactação	1 = < 190 dias; 2 = entre 191 e 234 dias; 3 = entre 235 e 278 dias
Idade	1 = < 5 anos; 2 = entre 5 e 6 anos; 3 = entre 6 e 8 anos
Sistema de produção	1 = freestall; 2 = semiconfinamento
Sistema de alimentação	1 = silagem de milho e Pré-secados e/ou fenos 2 = silagem de milho e forragem verde picado 3 = apenas silagem de milho
Forma de alimentação	1 = Total Mixed Ration (TMR); 2 = sem TMR

Com as variáveis eleitas, foi realizada uma ACM para explicar as relações de causa entre as variáveis relativas a composição do leite e dados zootécnicos. As mesmas variáveis submetidas à ACM foram utilizadas para uma análise de Clusters, pelo método de agrupamento dos clusters utilizando a distância euclidiana como critério de separação dos grupos.

A partir dos dados ajustados para os 5 clusters, os efeitos de grupo e regressão considerando as variáveis respostas contra a covariável ordem de parto, corrigida em relação à estimativa de sua média, segundo a equação:

$$\hat{Y} = \beta_0 + \beta_1 x_i + \beta_2 x_i^2 + \beta_3 x_i^3 + \epsilon_{ij}$$

Em que:

$\hat{Y}$  = valor estimado para as observações nas variáveis dependentes que descrevem a qualidade do leite;

$\beta_0$  = Intercepto representando o valor médio para o cluster 1 (Grupo 1) para a variável resposta;

$\beta_1$  = Coeficiente da regressão linear multiplicando a covariável  $x_i$  (Ordem de parto -  $\mu$  Ordem de parto estimada);

$\beta_2$  = Coeficiente quadrático para  $x_i^2$ ;

$\beta_3$  = Coeficiente cúbico para  $x_i^3$ ;

$\epsilon_{ij}$  = Vetor de erros associados ao Grupo  $i$  e à observação  $j$ .

As equações foram ajustadas segundo o melhor modelo: cúbico ou quadrático, segundo o método stepwise.

## Resultado e discussão

O módulo desenvolvido neste estudo é capaz de realizar a análise de dados referentes a um conjunto de variáveis qualitativas, utilizando o método Análise de Correspondência Múltipla (ACM). Este método é uma das técnicas da análise estatística multivariada, por analisar duas ou mais variáveis simultaneamente.

As variáveis ligadas ao sistema de produção leiteira e suas respectivas correlações estão representadas na Figura 6.

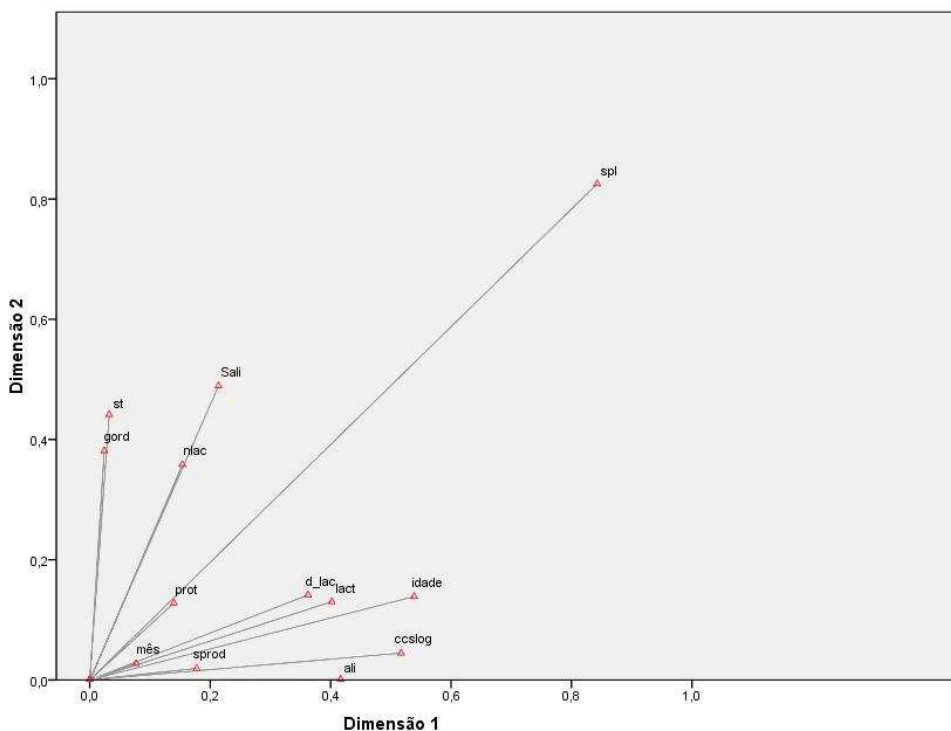


Figura 6 – Representação das variáveis e suas contribuições para a formação das duas dimensões da ACM

De acordo com Barroso & Artes (2003) as variáveis que assumem os maiores valores para cada dimensão são as que mais contribuem para a variância acumulada sob a forma de inércia. Para a formação da dimensão 1, as variáveis que mais contribuíram foram: dias em lactação, lactose, idade do animal, contagem de células somáticas e forma de alimentação. O conjunto dessas variáveis explica a interferência da fase da lactação do animal na saúde da glândula mamária.

Para a dimensão 2, os sólidos totais, a gordura no leite, o sistema de alimentação e o número de lactações explicam o impacto de manejo alimentar e ordem de lactação nos componentes do leite.

De acordo com a Figura 7, podem-se caracterizar as dimensões 1 e 2 e essas possuem 33,46% e 19,65% de variância explicada, respectivamente. A dimensão 1 se caracteriza pela relação entre idade dos animais, estágio de lactação e sanidade da glândula mamária. Schutz et al. (1990) confirmam a associação do estágio de lactação com a variação na CCS e esta influência pode ocorrer tanto no início quanto no final da lactação, bem como a ordem de lactação (Noro et al., 2006; Cunha et al., 2008). De acordo com a literatura, a ordem de lactação, é um indicativo da idade da vaca, que é uma importante causa na variação na produção de leite (Souza, 2008).

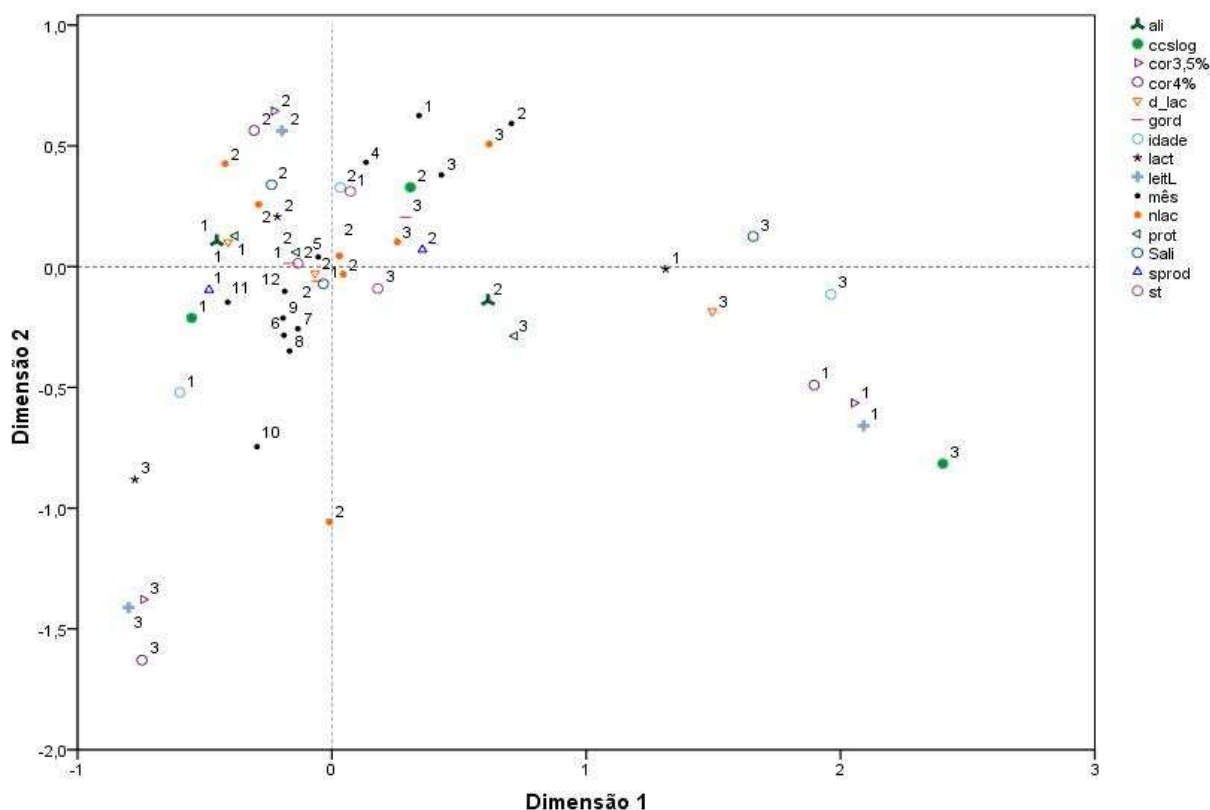


Figura 7 – Contribuição das variáveis e seus níveis de incidência para a formação do plano fatorial da análise de correspondência múltipla (ACM)

A dimensão 2 se caracteriza pela relação da produção de leite, idade dos animais e sanidade da glândula mamária. Cunha et al. (2002) observaram aumento na produção de leite entre a 1ª e a 3ª lactação. Estes autores observaram que a produção de leite dos animais com mais de quatro lactações foi diminuindo gradativamente até a oitava lactação. Windig et al. (2005) notaram que vacas de alta produção estão sob maior risco de ocorrência de mastite (maior desafio metabólico para produção de leite, duração maior da ordenha, entre outras causas) e que desta forma, necessitam de atenção e medidas de controle ainda mais rigorosas para prevenção dessa doença.

Muitos fatores podem estar envolvidos na alteração da contagem de células somáticas como, por exemplo, estado de infecção por mastite, estágio de lactação, número de lactações, estação do ano, tamanho do rebanho e nível de produção de leite, presença de outras doenças, entre outros (Fonseca & Santos, 2000; Philpot & Nickerson, 2002).

Tabela 7 – Correlação entre as variáveis transformadas para a ACM

	spl	mês	nlac	d_lac	idade	leitL	cor3,5%	cor4%	gord	prot	lact	st	ccslog	sprod	Sali
spl	1														
mês	0,002														
nlac	0,014	-0,005													
d_lac	0,039	-0,063	0,044												
idade	-0,064	-0,453**	0,306**	0,223**											
leitL	-0,055	0,169**	-0,042	-0,255**	-0,393**										
cor3,5%	-0,048	0,168**	-0,064	-0,255**	-0,406**	0,774**									
cor4%	-0,106*	0,155**	-0,034	-0,207**	-0,370**	0,791**	0,888**								
gord	-0,04	-0,077	0,022	0,099	0,135*	-0,251**	-0,012	-0,04							
prot	0,023	0,026	0,053	0,117*	0,145**	-0,236**	-0,176**	-0,193**	0,147**						
lact	-0,098*	0,209**	-0,143**	-,320**	-0,390**	0,472**	0,451**	0,446**	-0,089	-0,031					
st	-0,006	0,034	-0,029	0,081	0,066	-0,206**	0,013	0,001	0,612**	0,378**	0,083				
ccslog	-0,011	-0,225**	0,194**	0,338**	0,442**	-0,388**	-0,437**	-0,391**	0,102	0,223**	-0,398**	0,016			
sprod	0,222**	-0,002	0,051	-0,079	0,157**	-0,323**	-0,343**	-0,361**	0,069	0,007	-0,205**	0,057	0,093		
Sali	-0,187**	0,001	0,286**	0,073	0,262**	-0,024	-0,029	0,007	0,027	0,026	0,043	0,091	0,151**	0,039	
ali	-0,042	0,002	0,163**	0,103	0,232**	-0,287**	-0,277**	-0,276**	-0,035	0,296**	-0,215**	0,024	0,301**	0,264**	0,185**

\* significativo pelo teste  $t$  de Kendall ( $p < 0,05$ ); \*\* significativo pelo teste  $t$  de Kendall ( $p < 0,01$ )

spl = sistema de produção leiteiro; nlac = número de lactações; d\_lac = dias em lactação; leitL = volume de leite (L); cor3,5% = volume de leite corrigida para 3,5% de gordura; cor4% = volume de leite corrigido para 4% de gordura; gord = % de gordura; prot = % de proteína; lact = % de lactose; st = % de sólidos totais; ccslog = logaritmo da contagem de células somáticas; sprod = sistema de produção; Sali = sistema de alimentação; ali = forma de alimentação.

Para colaborar com as afirmações destacadas acima, as correlações entre as variáveis transformadas para a ACM foram descritas na Tabela 7. Observa-se correlação positiva ( $P < 0,05$ ) para dias em lactação e CCS, ou seja, com o avanço dos dias em lactação aumenta a CCS. A CCS foi significativa ( $P < 0,05$ ) para produção de leite, quanto menor a produção de leite maior a CCS.

Em complementação à ACM, a análise de clusters é um procedimento multivariado para detectar grupos homogêneos nos dados, podendo ser constituídos por variáveis ou casos (Pestana & Gageiro, 2000). Na Tabela 8, está descrito o agrupamento em cinco clusters e algumas variáveis eleitas.

Tabela 8 – Descrição dos clusters conforme algumas variáveis eleitas

		Descrição dos clusters					Geral
		Clusters 1	Clusters 2	Clusters 3	Clusters 4	Clusters 5	
Número de observações		2.785	22.354	4.718	6.832	8.654	45.343
Produção de leite (3,5%G)	Média	29,70	27,15	32,60	30,31	30,19	28,77
	Max	67,70	73,16	87,40	69,40	69,20	87,40
	Min	10,50	2,45	6,11	3,10	3,20	2,45
	Dp	7,80	8,70	8,28	9,35	9,64	8,97
Idade dos animais (anos)	Média	5,30	5,30	5,27	5,12	5,25	5,28
	Max	12,80	14,30	14,20	14,51	12,90	14,50
	Min	2,10	2,00	2,20	1,93	2,05	1,93
	Dp	2,10	2,00	2,14	2,05	1,89	2,02
Número de lactações	Média	2,70	2,30	2,70	2,52	2,49	2,50
	Max	9	11	11	10	10	11
	Min	1	1	1	1	1	1
	Dp	1,75	1,48	1,78	1,65	1,51	1,57
Estádio de lactação (dias)	Média	181	205	210	212	196	203
	Max	657	1185	892	1015	1096	1185
	Min	6	15	16	16	10	6
	Dp	111	143	137	148	139	142

A partir da formação dos cinco grupos (clusters), foi observado na Figura 8, a tipologia baseada na composição do leite e dados zootécnicos. O Grupo 1 e 2 são caracterizados por SPL com produção média de leite, nível médio de CCS e concentrado nos meses mais quente do ano (dezembro a março). Características comuns observadas ano após ano, sendo que no período de temperaturas mais quentes ocorre queda na produção de leite por causa do estresse calórico (Bajaluk, 2000). O Grupo 2 é bastante representativo em número de componentes frente aos demais grupos e pode ser considerado o grupo que caracteriza a média dos SPL desse estudo.

O Grupo 3 representa SPL mais produtivo, menor nível de CCS e concentrado nos meses de temperatura mais amena (junho a outubro). O padrão da raça dos animais em lactação desse estudo é predominantemente holandês e por isso essa variação



sazonal é bastante característica da raça (Bajaluk, 2000). Assim devemos levar em consideração a sazonalidade quando planejar estruturas e manejos zootécnicos (reprodutivo, sanidade e alimentar).

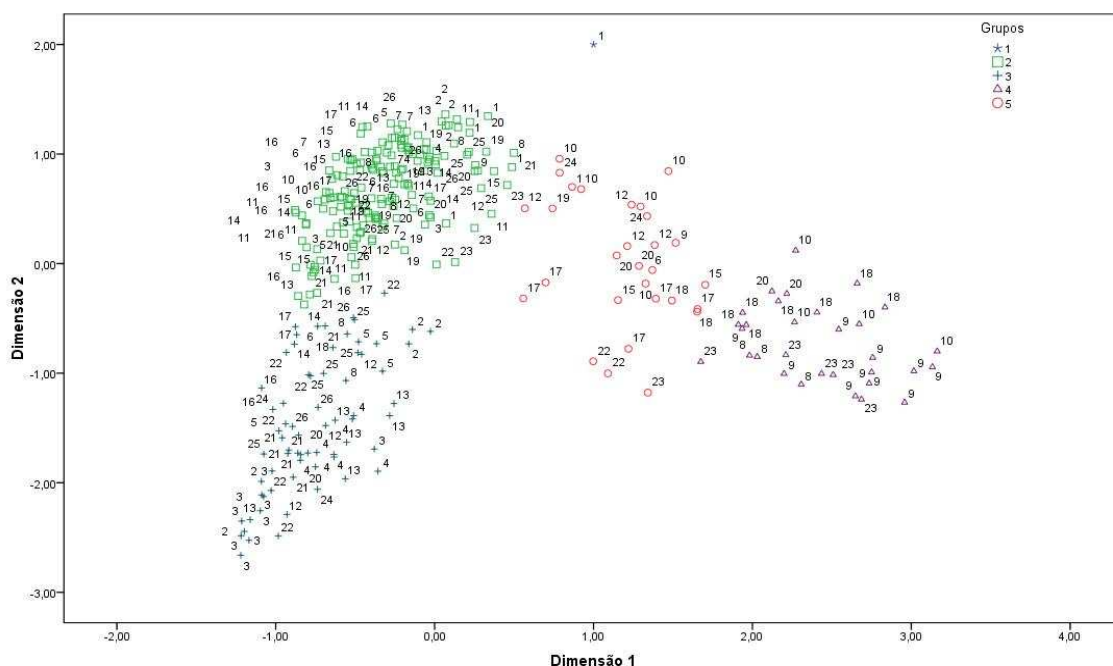


Figura 8 – Representação das tipologias dos Sistemas de Produção Leiteiro sobre o plano fatorial para a ACM

As relações entre sanidade da glândula mamária e produção de leite estão representadas pelos Grupos 4 e 5. A queda da produção de leite pelo aumento da CCS é descrita por alguns autores (Cunha et al., 2002; Noro et al., 2006; Souza, 2008) e para o Grupo 4 destaca também o avanço da idade e dias em lactação no aumento da CCS. A sanidade da glândula mamária deve ser mantida não apenas pela perda de produção de leite, mas também para o produtor oferecer a indústria um produto de qualidade e assim exigir por melhores preços.

Após a formação dos clusters, aplicou-se a análise de regressão considerando às variáveis respostas contra a covariável ordem de lactação.

Na Figura 9, observa-se o aumento da produção de leite com o avanço da ordem de lactação e conforme a média geral do número de lactações dos clusters que se limita até 2,5 lactações, não se notou a provável diminuição da produção de leite desses grupos após a 5ª lactação. Essa observação é descrita por muitos autores que informam que a vaca aumenta a produção até a idade adulta, tendo um pico de produção aproximadamente na terceira e quarta lactação e em seguida a produtividade passa a

declinar (Freitas et al., 2001; Teixeira et al., 2003; Magalhães et al., 2006; Noro et al., 2006; Andrade et al., 2007; Souza, 2008).

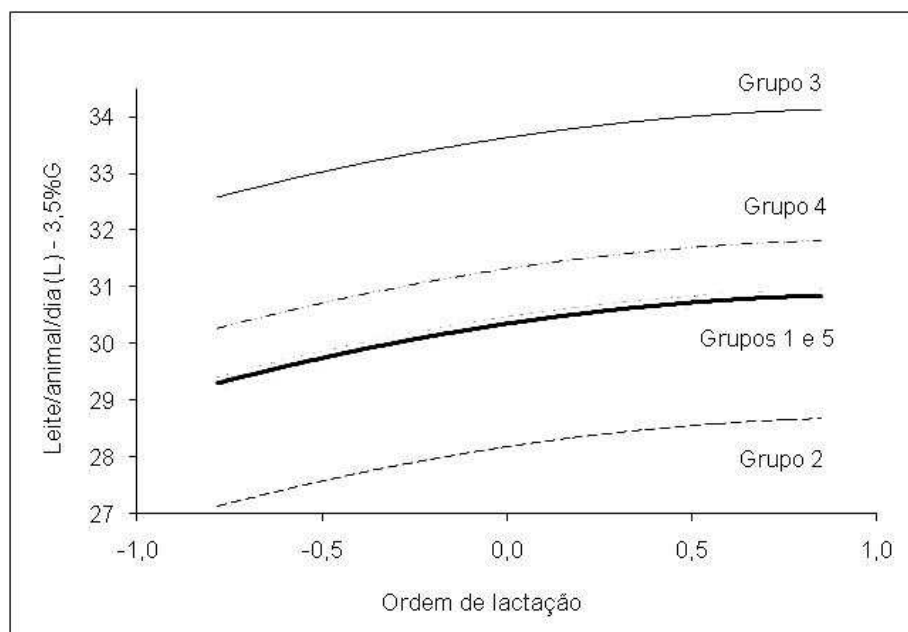


Figura 9 – Efeito da ordem de lactação na produção de leite

Para explicar o comportamento da produção de leite observado neste trabalho, Mattos (2004) cita que o tamanho corporal é positivamente correlacionado com o volume de produção de leite. Portanto, o aumento da produção estaria relacionado ao desenvolvimento da glândula mamária (aumento das células secretoras) e também com o crescimento corporal (maior capacidade de ingestão de alimentos), resultando em maior produção de leite. Os resultados obtidos podem ser explicados porque as primíparas não atingiram a maturidade fisiológica, e seu sistema mamário não suporta grande volume de produção. Segundo Block et al. (1995) vacas adultas podem produzir 25-30% a mais de leite do que vacas primíparas.

Para os componentes do leite, a porcentagem de gordura no leite (Figura 10), manteve-se constante com o aumento da ordem de lactação e para todos os grupos, semelhante ao observado por Teixeira et al. (2003) em que a porcentagem de gordura permaneceu relativamente constante com o aumento da ordem de lactação. No entanto, Noro et al. (2006) verificaram que a porcentagem de gordura do leite apresentou valores mais baixos nas vacas com menor ordem de lactação, apresentando maior teor nos animais com idade ao parto acima de 84 meses (7 anos).

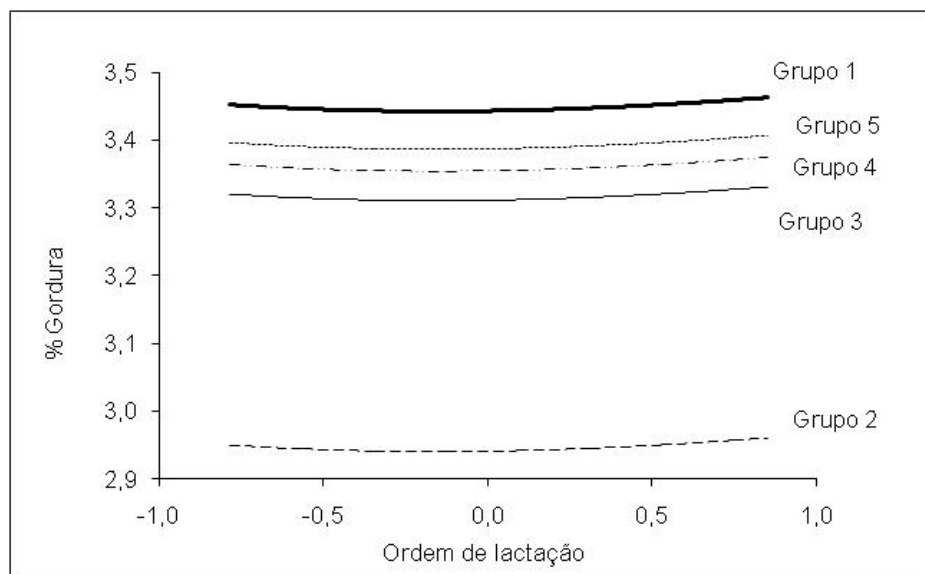


Figura 10 – Efeito da ordem de lactação na porcentagem de gordura no leite

A pequena variação da porcentagem de gordura com o avanço da ordem de lactação foi observada por Ng-Kwai-Hang et al. (1984) em controles leiteiros no Canadá, onde a porcentagem de gordura do leite apresentava queda linear de 0,004% entre vacas de 2 a 5 anos, seguida por queda de 0,05% entre animais com mais de 5 anos. Resultado semelhante também obteve Ribas et al. (1983) em rebanhos da raça Holandesa na bacia leiteira de Castro/PR.

Para a porcentagem de proteína no leite (Figura 11), notou-se comportamento inverso à curva de produção de leite, ou seja, com o avanço da ordem de lactação ocorreu diminuição da porcentagem de proteína. Semelhante ao relatado por Carvalho (2002), em que à medida que aumenta o número de lactações há diminuição no teor de proteína do leite.

De acordo com dados da Holstein DHIA (Dairy Herd Improvement Association), o teor de proteína do leite aos poucos diminui com o avançar da idade, ou seja, o conteúdo de proteína do leite diminui 0,10-0,15 unidades em um período de cinco ou mais lactações ou aproximadamente 0,02 a 0,05 unidades por lactação.

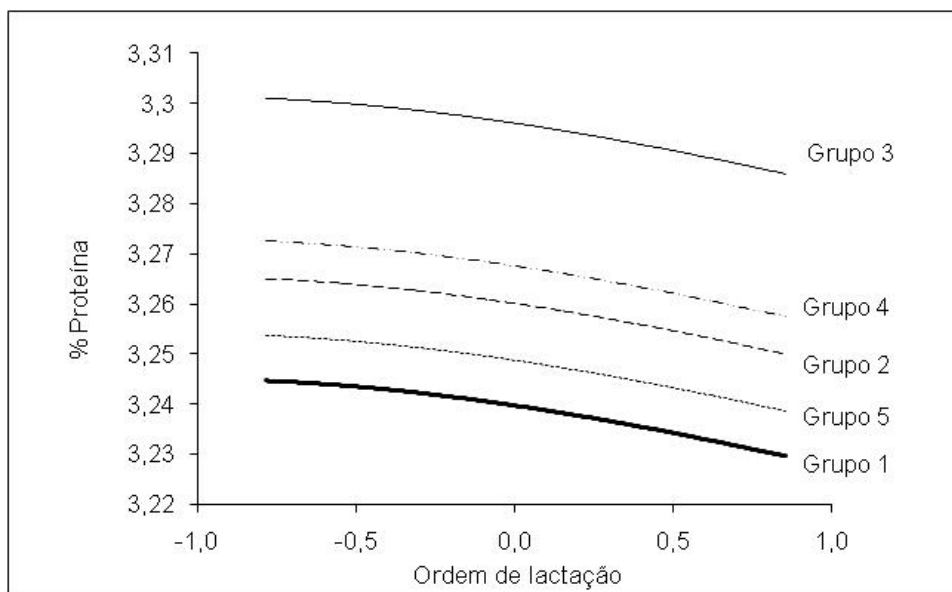


Figura 11 – Efeito da ordem de lactação na porcentagem de proteína no leite

A porcentagem de lactose (Figura 12) teve o mesmo comportamento, declinou com o avanço da ordem de lactação. Dados semelhantes ao observado por Noro (2004), que avaliou rebanhos em controle leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul.

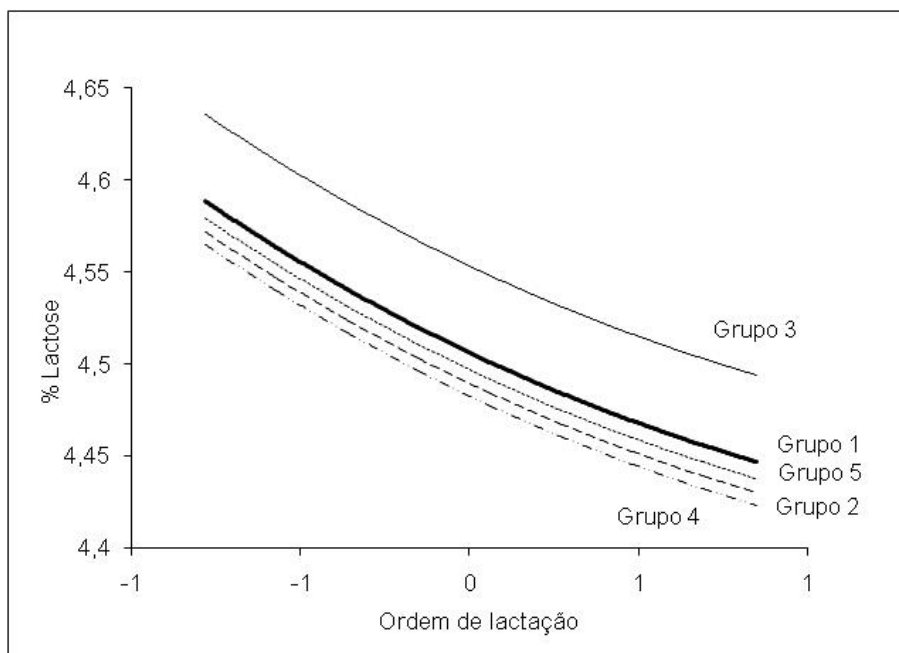


Figura 12 – Efeito da ordem de lactação na porcentagem de lactose no leite

Esse declínio da lactose pode estar associado ao aumento do escore de células somáticas (ECS) observado na Figura 13. Com o aumento do ECS a concentração de

NaCl no leite aumenta, para manter a pressão osmótica do leite ocorre uma redução no teor de lactose, havendo relação inversa entre a concentração de NaCl e lactose no leite (Fox et al., 2000). Esse decréscimo no teor de lactose pode ser explicado pela diminuição da capacidade de síntese da glândula, passagem de lactose do leite para o sangue e utilização da lactose pelos microrganismos como substrato para sua multiplicação (Marques et al., 2002).

O ECS dos grupos (Figura 13), comportaram-se da mesma maneira, com o aumento da ordem de lactação foi observado o aumento do ECS. Tais resultados também foram observados por Magalhães et al. (2006), Noro et al. (2006), Andrade et al. (2007) e Cunha et al. (2008) notaram que o aumento no ECS está relacionado com o aumento da idade da vaca. Segundo estes autores, o aumento do ECS ocorre em função do aumento da exposição a agentes causadores de mastite a medida que os animais envelhecem, enquanto nas primíparas essa exposição tende a ser menor.

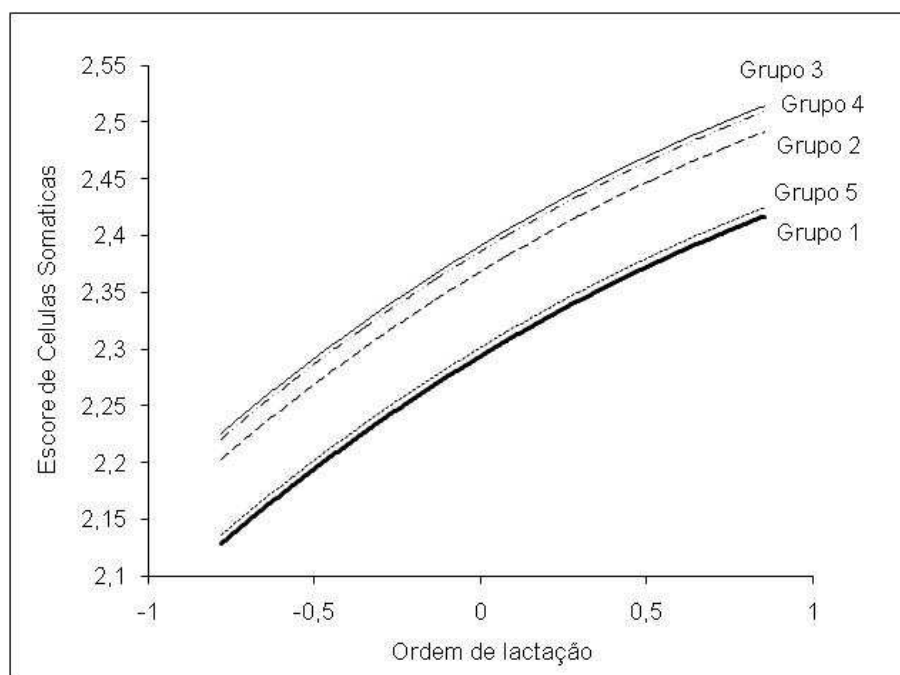


Figura 14 – Efeito da ordem de lactação no escore de células somáticas

Para o produtor, alta CCS significa menor retorno econômico, em decorrência da redução na produção, dos gastos com medicamentos e também das penalidades aplicadas pelos laticínios. Para a indústria, significam problemas no processamento do leite e redução no rendimento, em razão dos teores inferiores de caseína, gordura e lactose, que resultam em produtos de baixa qualidade e estabilidade.

## **Conclusão**

A saúde da glândula mamária é afetada pela fase de lactação e os componentes do leite sofrem alteração com o manejo alimentar e ordem de lactação.

Através das diferentes variáveis eleitas foram formados cinco Sistemas de Produção Leiteira e estes apresentaram o mesmo comportamento na composição do leite: aumento de produção de leite e escore de células somáticas com o avançar da ordem de lactação, queda na porcentagem de proteína e lactose e pouca variação na porcentagem gordura.

**Literatura citada**

- ANDRADE, L.M.; EL FARO, L.; CARDOSO, V.L. et al. Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.343-349, 2007
- BAJALUK, S.A.B. Efeito de fatores ambientais sobre a produção de leite, percentagem de gordura e percentagem de proteína em vacas da raça Holandesa no Estado do Paraná. **Scientia Agraria**, v.1, p.83-95, 2000.
- BARIONI, L.G. [2003]. **O enfoque sistêmico e sua importância para a pecuária leiteira**. Disponível em: <[www.milkpoint.com.br/?noticiaID=17420&actA=7&areaID=61&SECAOid=159](http://www.milkpoint.com.br/?noticiaID=17420&actA=7&areaID=61&SECAOid=159)>. Acesso em: 09 jul. 2011.
- BARROSO, L.P.; ARTES, R. **Análise multivariada**. Lavras: UFLA, 2003. 151p.
- BLOCK, E.; BURCHARD, J.F.; MONARDES, H.G. **Manual do curso de bovinos leiteiros**. Montreal: McGill University, 1995.
- CARVALHO, G.F.; CUNHA, R.P.L.; MOLINA, L.R. Milk yield somatic cell and physico-chemical characteristics of raw Milk collected from dairy cows in Minas Gerais State. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITES, 2., 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Instituto Fernando Costa, [2002]. (CD-ROM).
- CUNHA, R.P.L.; MOLINA, L.R.; CARVALHO, G.F. Parturition order Milk yield somatic cell count physico-chemical characteristics of Milk. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITES, 2., 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Instituto Fernando Costa, [2002]. (CD-ROM).
- CUNHA, R.P.L.; MOLINA, L.R.; CARVALHO, A.U. et al. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.19-24, 2008.
- DAMASCENO, J.C.; BOUNDERMÜLLER FILHO, A.; RAMOS, C. E. C. O. et al. O Papel do homem na gestão e controle de qualidade da produção de leite. In: SANTOS, G. T.; UHLIG, L.; BRANCO, A. F. et al. (Ed.) **Inovação tecnológica na cadeia produtiva do leite e a sustentabilidade da pecuária leiteira**. 1.ed. Maringá: Eduem, 2008. 310p.
- DÜRR, J.W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. (Ed.) **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, 2004. p.38-55.
- FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000, 175p.

- FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; McSWEENEY, P.L.H. **Fundamentals of cheese science**. New York: Aspen, 2000. 587p.
- FREITAS, M.S.; DURAES, M.C.; FREITAS, A.F. et al. Comparação da produção de leite e de gordura e da duração da lactação entre cinco "graus de sangue" originados de cruzamentos entre Holandês e Gir em Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, p.708-713, 2001.
- KUBRUSLY, L. S. Um procedimento para calcular índices a partir de uma base de dados multivariados. **Pesquisa Operacional**, v.21, p.107-117, 2001.
- MAGALHÃES, H.R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V.L. et al. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.415-421, 2006.
- MARQUES, L.T.; BALBINOTTI, M.; FISHER, V. Variations in the milk chemical composition according to somatic cell count. In: PANAMERICAN CONGRESS ON MILK QUALITY AND MASTITIS CONTROL, 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: [s.n.], 2002.
- MATTOS, W.R.S. Limites da eficiência alimentar em bovinos leiteiros. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.239-247, 2004.
- NG-KWAI-HANG, K.F.; HAYES, J.F.; MOXLEY, J.E. et al. Variability of test-day milk production and composition and relation of somatic cell counts with yield and compositional changes of bovine milk. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.361-366, 1984.
- NORO, G. **Fatores ambientais que afetam a produção e a qualidade do leite em rebanhos ligados a cooperativas gaúchas**. 2004. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- NORO, G.; GOZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R. et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1129-1135, 2006.
- PHILPOT, N.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a Luta Contra a Mastite**. Ed. Milkbuzz, 2002.
- PINHEIROS, S.L.G. O enfoque sistêmico e o desenvolvimento rural sustentável: uma oportunidade de mudança da abordagem hard-systems para experiências com soft-systems. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v.1, p.27-37, 2000.
- PESTANA, M.H.; GAGEIRO, J.N. **Análise de dados para Ciências Sociais: A complementaridade do SPSS**. 2.ed. Lisboa: Edições Sílabo, 2000. 694p.



- RIBAS, N.P.; MILAGRES, J.C.; GARCIA, J.A. Estudo da produção de leite e gordura em rebanhos holandeses da bacia leiteira de Castrolanda, Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.12, p.720-740, 1983.
- SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite**. 1.ed. Barueri: Editora Manole, 2006. 314p.
- SCHUTZ, M.M.; HANSEN, L.B.; STEUERNAGEL, G.R. Variation of milk, fat, protein, and somatic cells for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.484-493, 1990.
- SMITH, R.R.; MOREIRA, L.V.H.; LATRILLE, L.L. Characterization of dairy productive systems in the Tenth Region of Chile using multivariate analysis. **Agricultura Técnica**, v.62, p.35-395, 2002.
- SOUZA, R. **Variação na produção e qualidade do leite de vacas da raça holandesa em função da estação do ano e ordem de parto**. 2008. 42f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- TEIXEIRA, N.M.; FREITAS, A.F.; BARRA, R.B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.491-499, 2003.
- WINDIG, J. J.; CALUS, M. P. L.; JONG, G. et al. The association between somatic cell count patterns and milk production prior to mastitis. **Livestock Production Science**, v.96, p. 291-299, 2005.