13 COLETAR AMOSTRA DO LEITE PARA ANÁLISE DE QUALIDADE

Este item trata dos procedimentos para coleta, armazenamento e transporte de amostras de leite para avaliação da qualidade composicional e higiênico-sanitária em laboratórios da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL), do Mapa. Na IN nº 51, foi estabelecida a coleta mensal de pelo menos uma amostra de leite de propriedades que vendem o leite para estabelecimentos fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF). Esta coleta mensal obrigatória é de responsabilidade do estabelecimento, mas o produtor de leite também pode enviar amostras de leite para os laboratórios da RBQL caso queira análises mais frequentes ou específicas da qualidade do leite que produz.

As amostras de leite de rebanhos para avaliação da qualidade podem ser obtidas do tanque de refrigeração ou dos latões e devem ser representativas do volume total de leite que se pretende avaliar. O volume de leite a ser amostrado pode variar em função do tamanho dos latões (20 a 50 litros) e dos tanques de refrigeração (300 a 8.000 litros), e uma única amostra é utilizada para a análise.

Amostra de leite de cada animal também pode ser obtida para determinação dos componentes e da CCS do leite.

Os procedimentos de coleta, armazenamento e transporte de amostras devem ser padronizados, de acordo com normas aceitas internacionalmente, de modo que os resultados obtidos por diferentes laboratórios possam ser comparados entre si.

Além da representatividade da amostra, mencionada acima, outros fatores podem interferir nos resultados das análises e devem ser levados em consideração, como:

- A facilidade de contaminação da amostra de leite, devido a sua riqueza nutricional, proporciona um meio ideal para a multiplicação microbiana, que pode causar a sua deterioração em algumas horas e inviabilizar a amostra para análise.
- A contaminação da amostra de leite pode ocorrer em condições inadequadas de coleta e alterar os resultados de CBT.
- A multiplicação de bactérias em amostras armazenadas e transportadas em temperatura superior a 7 ºC pode alterar os resultados da CBT e da CCS.

- A não homogeneização por um tempo adequado do volume total de leite a ser amostrado pode resultar em amostras com valores sub ou superestimados para os teores dos componentes do leite.

A confiabilidade dos resultados das análises depende, em grande parte, da adoção de procedimentos estabelecidos para a coleta e transporte das amostras, sendo importante observar:

- a padronização dos procedimentos: a descrição dos procedimentos deve estar disponível, por escrito, de forma visível e de fácil acesso, no local da coleta;
- a escolha de materiais adequados para a coleta e transporte das amostras, observando-se, especialmente: o tipo de frasco, o tipo de conservante e as condições de armazenamento das amostras;
- a temperatura de armazenamento da amostra e tempo decorrido entre a coleta e a realização das análises;
- o fornecimento de informações sobre as amostras e o rebanho de origem;
- o treinamento do responsável pela coleta, que deve:
  - receber informação sobre os riscos inerentes ao manuseio dos conservantes usados ou de qualquer outro produto químico que possa apresentar risco à saúde do responsável pela coleta, à saúde dos consumidores do leite e ao ambiente;
  - ser orientado sobre os cuidados higiênicos e sobre os riscos de contaminação do leite com conservantes em caso de má condução de suas atividades;
  - dispor de tempo suficiente para proceder à coleta conforme as instruções recebidas, especialmente quanto à homogeneização do leite antes da coleta e ao uso correto dos frascos e conservantes, mesmo que haja outras atividades a serem desempenhadas.

13.1 REÚNA O MATERIAL

▼ FRASCOS

Os frascos utilizados são, geralmente, de material plástico, com tampas rosqueáveis. As tampas devem vedar o frasco de maneira segura, para evitar tanto o vazamento do líquido quanto a contaminação do leite com água, poeira ou qualquer outro produto.

Normalmente, os frascos e os conservantes são fornecidos pelo laboratório responsável pelas análises. Isso facilita e agiliza a rotina do laboratório, pois são usados frascos de tamanho e formato adequados para o uso nos equipamentos.

Os frascos devem ser conservados em ambiente seco, ao abrigo da luz, e protegidos de qualquer contaminação (poeira, água, insetos etc.). Só devem ser abertos no momento da coleta.

Precaução: *Os frascos plásticos devem ser mantidos fora do alcance de crianças, para evitar acidentes e contaminação com os conservantes contidos no seu interior.*

Os frascos utilizados para a coleta de amostras de leite destinadas à determinação da composição e à CCS possuem a tampa translúcida (mesma cor do frasco) e são disponibilizados com uma pastilha de conservante (Bronopol®) no seu interior.

Os frascos utilizados para a CBT possuem tampa vermelha e são previamente esterilizados. São conservados em sacos plásticos individuais, para evitar contaminação. Esses frascos devem ser abertos no momento da coleta, para a adição da amostra de leite e do conservante em seu interior.

Os frascos e equipamentos ou utensílios (conchas, copos coletores e baldes) usados para a coleta de amostras devem ser protegidos de contaminação antes e durante o uso.

▼ CONSERVANTES

Os conservantes são usados para garantir que as amostras de leite mantenham sua integridade e características desde o momento da coleta até a realização da análise no laboratório. Há vários tipos de conservantes que podem ser usados.

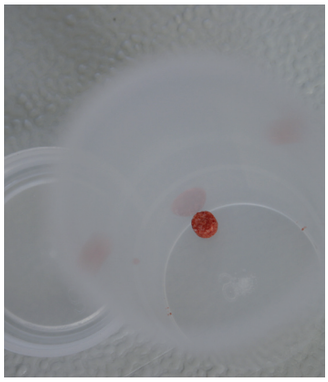
Precaução: *Os conservantes são tóxicos e, por isso, devem ser manuseados com o auxílio de luvas cirúrgicas e não devem entrar em contato com o leite destinado ao consumo.*

Os conservantes usados no laboratório são os recomendados pela Federação Internacional de Laticínios (FIL – *International Dairy Federation, IDF*) e pelo Mapa. São eles:

- **Bronopol®** (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol)

Conservante recomendado para análises de composição e de CCS. A concentração final na amostra deve ser entre 0,02% e 0,05%.

O Bronopol® é usado normalmente na forma de comprimido com 10 mg de ingrediente ativo ou 0,05 mL (contendo 20% do ingrediente ativo) para cada 50 mL de leite.



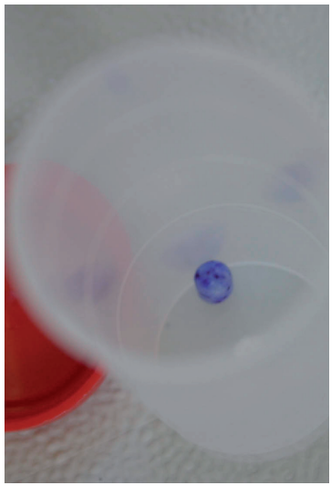
No Brasil, o Bronopol® tem sido fornecido na forma de pastilhas. Geralmente é colocada uma pastilha em cada frasco, que é suficiente para, aproximadamente, 40 mL de leite.

No caso da análise de gordura, existe a recomendação de se proceder à análise no máximo cinco dias após a coleta.

- **Azidiol** (azida sódica e cloranfenicol)

Conservante recomendado para as amostras destinadas à CBT. As concentrações finais da azida sódica e cloranfenicol na amostra de leite devem ser de 0,10% a 0,12% e de 0,004% a 0,005%, respectivamente.

A forma de apresentação do azidiol pode ser sólida (pastilhas) ou líquida. No caso de pastilha, geralmente ela é colocada no interior do frasco esterilizado, que é suficiente para 40 mL de leite.



O azidiol líquido pode ser fornecido pelo laboratório em frascos conta-gotas, e o responsável pela coleta deve colocar duas gotas em cada frasco, para 30 mL a 40 mL de leite. Além do cloranfenicol e da azida sódica, esse conservante contém o corante azul de bromofenol, que confere às amostras de leite uma coloração azul clara.

Atenção: *No caso do azidiol líquido no frasco conta-gotas, o frasco deve ser devolvido para o laboratório, para tratamento adequado antes de ser descartado.*

Precaução: *O azidiol é extremamente tóxico, caso ingerido ou em contato com alguma mucosa, podendo causar lesões no sistema nervoso central e no coração; em contato com soluções ácidas, pode produzir gases que causam danos à saúde caso sejam inalados.*

Alerta ecológico: *O azidiol é prejudicial ao meio ambiente e pode causar a morte de qualquer tipo de vida aquática; por isso, não deve ser descartado no meio ambiente.*

▼ CAIXA ISOTÉRMICA COM GELO RECICLÁVEL

De acordo com o Mapa, as amostras de leite devem ser acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável, e a temperatura não deve ultrapassar os 7 °C no período compreendido entre a coleta de amostras e a realização das análises no laboratório (máximo de 96 horas).

▼ COLETADOR

O coletador de amostra (concha, ou outro modelo) deve ser mantido limpo e seco, evitando o contato com materiais ou superfícies contaminadas por moscas, matéria orgânica, poeira etc. Ele deve ter superfície lisa e cantos arredondados, para facilitar sua limpeza, e ser, de preferência, de aço inoxidável.

▼ ETIQUETA

As etiquetas adesivas com código de barras para identificação de rebanhos e animais são específicas e fornecidas pelos laboratórios da RBQL. Elas devem ser fixadas verticalmente nos frascos para acondicionamento das amostras e não podem ser rasuradas em hipótese alguma, pois isso representa não conformidade relacionada à identificação das amostras, inviabilizando a análise. Caso não haja etiqueta para identificação da amostra, realiza-se a identificação do frasco com caneta cuja tinta não saia em contato com água (caneta tipo retroprojetor). Os frascos identificados com caneta devem vir acompanhados de uma ficha para identificação das amostras, com data de coleta, nome do responsável, origem do rebanho, localização do rebanho e nome do proprietário.

▼ LEITE

O leite de rebanho a ser amostrado é aquele que se encontra armazenado nos latões ou tanques de refrigeração.

13.2 LAVE O AGITADOR E O COLETOR

13.3 ENXÁGUE

13.4 SEQUE COM PAPEL-TOALHA

13.5 ABRA O RESERVATÓRIO DE LEITE

13.6 VERIFIQUE SE HÁ ALGUMA ANORMALIDADE NO LEITE

Se houver anormalidade, registrar a ocorrência e interromper a coleta. Neste caso, se a coleta da amostra for realizada, os resultados podem não expressar os verdadeiros valores para componentes CCS e CBT.

13.7 AGITE O LEITE

Em tanques de refrigeração, o sistema de agitação deve ser ligado por, no mínimo, cinco minutos imediatamente antes da coleta da amostra. Quando a capacidade do tanque for maior que 5.700 litros, o tempo de agitação deve ser aumentado para dez minutos ou de acordo com a recomendação do fabricante. Em qualquer caso, deve-se sempre coletar a amostra logo após o desligamento do agitador.

A coleta de amostra do leite do tanque de refrigeração requer agitação suficiente para promover a homogeneização adequada dos componentes do leite (gordura, proteína e lactose), evitando-se alterações das leituras, que se devem pela tendência de acúmulo dos glóbulos de gordura na superfície do volume total de leite. Esses glóbulos carreiam células somáticas e bactérias, e, caso o leite não seja bem homogeneizado e a coleta seja feita apenas da superfície do volume total de leite, os resultados ficarão alterados.

Atenção: *Em latão, deve-se utilizar um agitador manual (agitador de latão) por, no mínimo, dez segundos. Misturar o leite das camadas superiores com o das camadas inferiores, pelo menos dez vezes, com movimentos suaves e contínuos. O movimento do agitador deve ser sempre na direção vertical (para cima e para baixo).*

13.8 COLETE A AMOSTRA PARA A ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO E CCS

A amostra coletada para CCS é a mesma para a determinação dos componentes. Dessa forma, é fundamental homogeneizar o volume total de leite a ser amostrado, para que a gordura sobrenadante não interfira nos resultados de CCS. Seguir criteriosamente as recomendações garantirá uma coleta adequada e avaliação correta da qualidade higiênico-sanitária do leite. Para a análise de composição e de CCS do leite, o frasco a ser utilizado é o de tampa translúcida, com o conservante Bronopol®.

13.8.1 PEGUE O FRASCO ESPECÍFICO PARA COLETA DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO E CCS

Atenção: *O frasco de amostra deve ser manuseado com cuidado, evitando-se derrubar a tampa no chão ou o contato dela ou do interior do frasco com outros materiais ou possíveis contaminantes.*

13.8.2 PEGUE A CONCHA DE COLETA

A concha deve estar limpa, desinfetada e seca.

13.8.3 MERGULHE A CONCHA 5 VEZES NO VOLUME DE LEITE A SER AMOSTRADO

13.8.4 COLETE O LEITE COM A CONCHA, TRANSFERINDO-O PARA O FRASCO

Atenção: 1 – *Não se deve ultrapassar 3/4 do frasco com leite (medida feita considerando-se o frasco tampado). Isso é feito para permitir a mistura do leite com o conservante no interior do frasco após a coleta.*

2 – *Os frascos com conservante devem ser mantidos longe da abertura do latão e do tanque de resfriamento, para, em caso de derramamento, evitar a contaminação do leite armazenado.*

13.8.5 TAMPE O FRASCO

Atenção: *Os frascos apresentam tampas próprias, que não devem ser mudadas no momento da coleta.*

13.8.6 TOMBE O FRASCO DE UM LADO PARA O OUTRO, POR 10 VEZES

Atenção: *O leite deve adquirir a coloração característica do conservante, que é rósea ou pêssego, no caso do Bronopol®.*

13.8.7 SEQUE O FRASCO POR FORA COM PAPEL-TOALHA, CASO SEJA NECESSÁRIO

13.8.8 IDENTIFIQUE O FRASCO

13.8.9 COLOQUE O FRASCO NA CAIXA TÉRMICA

Atenção: 1 – *As amostras de leite devem ser mantidas sob refrigeração, em caixa isotérmica (tipo isopor ou outra) com gelo reciclável, desde imediatamente após a coleta até a entrega no laboratório. Deve-se garantir que a quantidade de gelo reciclável seja suficiente para manter a temperatura interna da caixa isotérmica em, no máximo, 7 °C.*

2 – *As amostras devem ser acondicionadas adequadamente para evitar o congelamento, pois isso provoca alterações nos resultados. O uso de gelo comum ou gelo em saco plástico deve ser evitado, pois a água resultante do degelo pode prejudicar a identificação das amostras.*

Quando a amostra de leite for retirada de latões, deve-se homogeneizar o volume total de leite de cada latão, transferir as quantidades de leite proporcionais de cada latão para outro recipiente e, deste recipiente, retirar o volume necessário para o frasco. Por exemplo: se houver dois latões, sendo um cheio e outro pela metade, retira-se um litro do primeiro e meio litro do segundo latão. Desse volume de 1,5 litros, retira-se à amostra para análise, depois de se misturar bem o leite.

13.8.10 FECHE A CAIXA ISOTÉRMICA

13.9 COLETE A AMOSTRA PARA A ANÁLISE DE CBT

Para a análise de CBT do leite, o frasco a ser utilizado é o de tampa vermelha, estéril, embalado individualmente em plástico.

Atenção: *O leite deve adquirir a coloração característica do conservante, que é azulado, no caso do Azidiol.*

13.9.1 PEGUE O LEITE

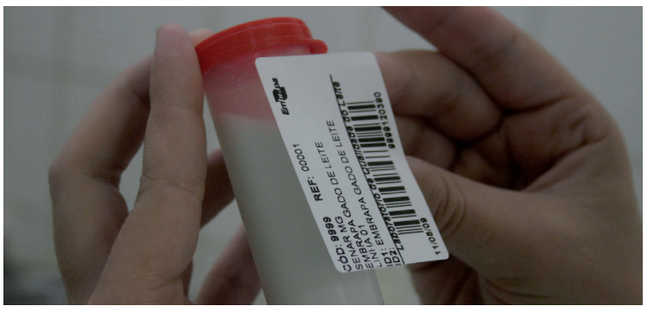
13.9.2 COLOQUE-O NO FRASCO

Atenção: *Para as amostras destinadas à CBT, cujo laboratório responsável pela análise utilize o conservante azidiol na forma líquida, adicionam-se as 4 gotas neste momento, ou seja, depois de coletar o leite e antes de tampar o frasco.*

13.9.3 FECHE O FRASCO

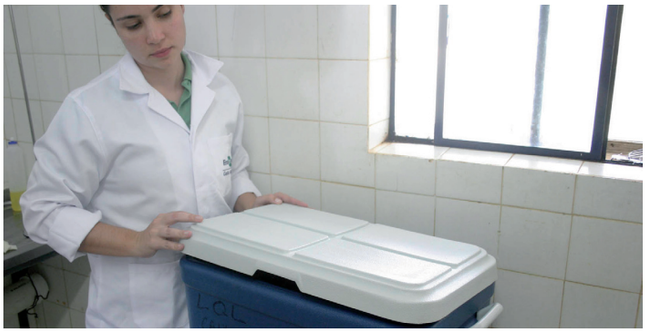
13.9.4 AGITE O FRASCO

13.9.5 IDENTIFIQUE O FRASCO



13.9.6 COLOQUE-O NA CAIXA ISOTÉRMICA

13.9.7 FECHE A CAIXA ISOTÉRMICA



13.10 TRANSPORTE AS AMOSTRAS PARA O LABORATÓRIO

As amostras devem ser enviadas para o laboratório sob refrigeração (temperatura ideal de 4 ºC e, no máximo, de 7 °C) e entregues dentro de 96 horas após a coleta.