






Implementação de um sistema de ordenha e manejo da qualidade do leite bubalino em uma estação experimental no Rio Grande do Sul, Brasil

Implementation of a milking system and quality management for buffalo milk at an experimental station in Rio Grande do Sul, Brazil

Vitória Leite Di Domenico¹ , Ana Raisa Paiva² , Louise Jank³ , Caroline Andrade Tomaszewski³ , Amanda de Souza da Motta^{*1} 

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

³ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

*Autor correspondente: asmcons@gmail.com

Resumo

A produção de leite bubalino é uma atividade que tem crescido nos últimos anos, principalmente devido às características físico-químicas apresentadas pelo leite, que é o segundo mais produzido no mundo. O objetivo deste trabalho foi implementar um sistema de ordenha e monitorar os padrões de identidade e qualidade do leite bubalino produzido na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Amostras foram coletadas quinzenalmente entre os meses de junho e novembro de 2021, totalizando dez coletas. As médias obtidas ao final do monitoramento foram de 4,84 g/100 g para gordura, 4,64 g/100 g para proteína, 5,06 g/100g para lactose, 15,26 g/100 g sólidos totais, 10,42 g/100g para sólidos não gordurosos, 0,18 g ácido láctico/100 mL de leite para acidez, 1,037 g/cm³ para densidade, -0.533°C para índice crioscópico, 3,5 x 10⁵ cél/mL para contagem de células somáticas e 8,0 x 10³ UFC/ml para contagem padrão em placa. Não foram identificados resíduos de antibióticos e antiparasitários. Observou-se aumento de concentração e frequência de alguns ácidos graxos, após incremento de manejo nutricional dos animais, além da predominância dos ácidos palmítico (C16:0) e oleico (C18:1- cis (n9)). Os resultados indicam que houve uma melhora significativa na qualidade do leite no período avaliado, decorrente das ações corretivas que foram estabelecidas, e a contagem padrão em placa demonstrou boas práticas agropecuárias na obtenção do leite e na higienização dos materiais, estando abaixo dos limites exigidos pela IN 76. O leite de búfala produzido pelo rebanho da Estação Experimental apresentou resultados físico-químicos e microbiológicos de acordo com a legislação, sendo uma matéria-prima a ser explorada na prospecção de produtos derivados.

Palavras-chave: boas práticas agropecuárias; *Bubalus bubalis*; búfalo; leite cru.

Abstract

Buffalo milk production is an activity that has grown in recent years, mainly due to the physicochemical characteristics found in this type of milk, which is the second most produced in the world. The objective of this study was to implement a milking system and monitor the identity and quality standards of buffalo milk produced at the Experimental Agronomic Station of the Federal University of Rio Grande do Sul. Samples were collected fortnightly between June and November 2021, totaling ten collections. The means obtained at the end of the monitoring were 4.84 g/100 g for fat, 4.64 g/100 g for protein, 5.06 g/100 g for lactose, 15.26 g/100 g for total solids, 10.42 g/100g for non-fat solids, 0.18 g lactic acid/100 mL of milk for acidity, 1.037 g/cm³ for density, -0.533°C for cryoscopic index, 3.5 x 10⁵ cells/mL for somatic cell count, and 8.0 x 10³ CFU/ml for standard plate count. Residues of antibiotics and antiparasitics were not found. An increase in the concentration and frequency of some fatty acids was observed, after an increment in the nutritional management of the animals, in addition to predominance of palmitic acid (C16:0) and oleic acid (C18:1- cis (n9)). The results indicate a significant improvement in the quality of the milk in the assessment period, due to the corrective actions that were established, and the standard plate count showed good agricultural practices as to milk sourcing and the hygiene of the materials, being below the limits required by NI 76. The buffalo milk produced by the herd at the Experimental Station showed physicochemical and microbiological results in accordance with the legislation, being a raw material to be explored in the prospection of derivative products.

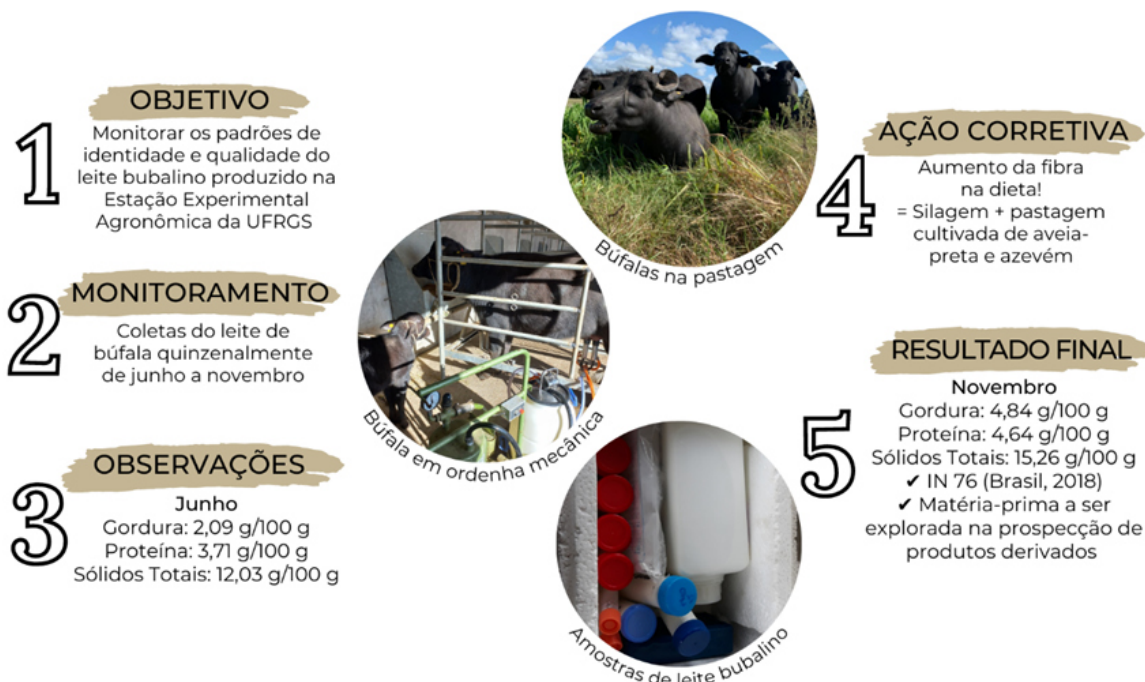
Keywords: *Bubalus bubalis*; buffalo; good agricultural practices; raw milk.

Recebido: 7 de março de 2023. Aceito: 22 de maio de 2023. Publicado: 22 de junho de 2023.



Este é um artigo de Acesso Aberto distribuído sob os termos da Creative Commons Attribution License, que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente citado.

<https://revistas.ufg.br/vet/index>



Resumo gráfico - Implementação de um sistema de ordenha e manejo da qualidade do leite bubalino em uma estação experimental no Rio Grande do Sul, Brasil

1. Introdução

O leite bubalino é o segundo mais produzido no mundo, ficando atrás apenas do leite bovino, e em 2019 representava aproximadamente 15% da produção mundial de leite⁽¹⁾. De acordo com uma colaboração entre a Organização para o Desenvolvimento da Cooperação Econômica (OECD) e a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), essa produção deve aumentar 1,7% ao ano na próxima década para atender ao aumento do consumo mundial de produtos lácteos, impulsionado pelo aumento da população e da renda em países em desenvolvimento⁽²⁾.

A exploração leiteira dos bubalinos é uma atividade que tem crescido nos últimos anos, e entre 2010 e 2020 esse crescimento foi de aproximadamente 45%⁽¹⁾, principalmente devido às características físico-químicas apresentadas pelo leite, que possui teores de proteína e gordura maiores quando comparado ao leite bovino^(3, 4). Os resultados apresentados por Pignata et al.⁽³⁾ indicaram valores elevados de ácidos graxos de cadeia longa, como o ácido linoleico conjugado (CLA), popularmente conhecido como Ômega 3, que atua contra a obesidade, possui efeito anti-inflamatório e diminui os níveis de triglicerídeos do sangue. De acordo com Ménard et al.⁽⁵⁾, o

leite de búfala apresenta teores maiores de ácidos graxos saturados, principalmente ácido palmítico, e nos ácidos graxos trans, o ácido linolênico e ácido linolênico conjugado do que no leite de vaca.

Entretanto, a qualidade do leite cru pode variar devido a fatores ambientais que influenciam cada um de seus componentes, como por exemplo a nutrição animal, o estágio da lactação e a estação do ano. Godinho et al.⁽⁴⁾ em estudo realizado com os produtores bubalinos do Rio Grande do Sul, observaram que no verão; as médias de proteína e sólidos não gordurosos (SNG) foram de 4,27 g/100 g e 10,17 g/100 g, respectivamente, enquanto que no inverno os teores de proteína reduziram para 3,9 g/100 g e os de SNG para 9,83 g/100g. Essas variações foram associadas com uma menor produção de leite nas estações mais quentes, aumentando a concentração deste componente no leite; e o mesmo reflete na densidade, que foi maior no verão quando comparada com outono. O leite cru pode ainda estar exposto a contaminações microbiológicas provenientes do ambiente produtivo, determinada por fatores como manejo da ordenha e a higienização de utensílios, que contribuem de modo importante para as condições microbiológicas do leite como produto, sendo importante a adequação dos

maneios de ordenha à protocolos de Boas Práticas Agropecuárias (BPA), que de acordo com o guia publicado pela FAO & International Dairy Federation (IDF)⁽⁶⁾, tratam da implementação de procedimentos em todas as etapas da produção de leite nas propriedades rurais que devem assegurar que o leite e os seus derivados sejam seguros.

Pelas características apresentadas, principalmente devido aos elevados teores de sólidos totais, o leite de búfala representa uma matéria prima de qualidade para a elaboração de queijos e de derivados lácteos, apresentando alto rendimento na produção de alguns tipos de queijos, como a mozzarella. Entretanto, trata-se de um leite sobre o qual não há legislação vigente em nível federal no Brasil que atenda a todos os parâmetros para uma padronização, como existe para o leite bovino, por meio da Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018⁽⁷⁾, que pode ser utilizada tendo em vista a proximidade entre os dois gêneros (*Bos e Bubalus*) que se inserem na mesma sub-família *Bovinae*.

Este estudo teve o objetivo de realizar o monitoramento dos padrões de identidade e qualidade do leite bubalino produzido durante a implementação e consolidação do sistema de produção leiteira bubalina em seu primeiro ano na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA-UFRGS).

2. Material e métodos

2.1 Local da pesquisa e rebanho bubalino experimental

A pesquisa foi realizada no Tambo da Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA-UFRGS), localizada no KM 146 da BR 290 no município de Eldorado do Sul - RS (latitude sul 30° 05'32" e longitude oeste 51°40'37"). Em 2021, entre os meses de abril e dezembro, foi realizada a implantação do sistema de ordenha. Para isso, cinco fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) multíparas com média de 60 dias de lactação, das raças Murrah e Mediterrâneo, com peso médio de 583,7 ± 47,12 kg e idade entre 5 e 20 anos foram submetidas ao manejo de ordenha uma vez por semana com a presença do terneiro, realizada em um sistema de ordenha mecânica balde ao pé com um conjunto de teteiras. Para o manejo da ordenha, foram realizados os seguintes procedimentos: higienização das mãos do ordenhador com detergente neutro e água corrente, pré-dipping à base de iodo (GlobalVac) e secagem dos tetos com papel toalha, teste da caneca de fundo preto, *California Mastitis Test* (CMT), ordenha mecânica e pós-dipping à base de iodo (GlobalVac). As búfalas foram mantidas em Campo Nativo (1,65 ha por UA), com acesso à sal mineral, 0,9% do peso vivo em silagem de milho ofertada duas vezes por

semana e concentrado à base de milho e soja durante a ordenha (90% de farelo de milho e 10% de farelo de soja). Nos meses de setembro e outubro, as búfalas tiveram acesso à pastagem cultivada (0,6 ha por UA), composta por aveia-preta e azevém, bem como passaram a receber o dobro da silagem duas vezes por semana (1,8% do peso vivo).

2.2 Coletas e análises do leite de búfala

As coletas do leite de búfala foram realizadas quinzenalmente, tanto as individuais quanto as de conjunto, no período compreendido entre os meses de junho a novembro de 2021. Tratando-se de um projeto envolvendo animais, o mesmo foi enviado para o Comitê de Ética para Uso de Animais da UFRGS (CEUA) e foi aprovado sob o número 40325.

2.3 Contagem de células somáticas (CCS) e análise da composição centesimal

Foram feitas coletas individuais de 50 ml de leite bubalino em frasco estéril com conservante Bronopol para CCS e composição centesimal. Para a coleta das amostras individuais, foi realizada a ordenha completa de cada búfala. Após a finalização da ordenha, o leite era homogeneizado no tarro para que fosse, posteriormente, coletado. As amostras foram identificadas com data, número da coleta e brinco da búfala, acondicionadas sob refrigeração em caixa térmica e conduzidas ao Laboratório Credenciado de Qualidade do Leite da Univates (certificado Cgcre - Inmetro número CRL 0754). A CCS foi realizada por citometria de fluxo, de acordo com a ISO 13366-2⁽⁹⁾. A análise da composição centesimal, para gordura (g/100 g), proteína (g/100 g), lactose (g/100 g), sólidos não gordurosos (SNG) (g/100 g) e sólidos totais (ST) (g/100 g), foi realizada através da espectrometria de infravermelho, de acordo com a metodologia ISO 9622⁽¹⁰⁾.

2.4 Análise dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos

Para estas determinações, procedeu-se as coletas através da amostragem de 1000 ml de leite bubalino de conjunto em frasco estéril para as análises físico-químicas e 50 ml de em frasco estéril com conservante Azidiol para a análise microbiológica. As amostras foram identificadas com data e número da coleta para serem encaminhadas ao Laboratório de Qualidade do Leite da Univates. Para os parâmetros físico-químicos, a densidade foi realizada de acordo com o Método 2.12 do Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal⁽¹¹⁾, e a acidez titulável foi conforme o Método 2.2⁽¹²⁾ do mesmo manual. O índice crioscópico (IC) foi obtido pela metodologia ISO 5764⁽¹³⁾. A análise microbiológica de Contagem Padrão em Placa (CPP) foi realizada de acordo com a metodologia ISO 4833-1⁽¹⁴⁾.

2.5 Pesquisa de resíduos de antibióticos e antiparasitários

Para a pesquisa de resíduos de antimicrobianos e antiparasitários, amostras de 50 mL de leite bubalino de conjunto foram coletadas em frasco estéril do tipo Falcon, identificados com a data e número da coleta, e congeladas para serem encaminhadas para análise no Laboratório Federal de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (LFDA/RS-MAPA). A análise foi realizada pelo método de triagem de 46 resíduos de antimicrobianos e antiparasitários pertencentes a diferentes classes, usando cromatografia líquida-eletrospray-espectrometria de massa em tandem (LC-ESI-MS / MS), conforme descrito anteriormente⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Os resíduos pesquisados para antibióticos e antiparasitários foram: tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina, doxiciclina, sulfadiazina, sulfatiazol, sulfametazina, sulfametoxazol, sulfaquinoxalina, sulfadimetoxina, sulfadoxina, sulfapiridazina, sulfamerazina, sulfisoxazol, ácido nalidíxico, ácido ozonyl, flumequina, ciprofloxacina, enrofloxacina, difloxacina, sarafloxacina, danofloxacina, norfloxacina, penicilina G, penicilina V, ampicilina, amoxicilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, ceftiofur, cefapirina, cefoperazona, nafcilina, cefquinoma, cefalônio, cefalexina, eritromicina, espiramicina, tilmicosina, azitromicina, tilosina, lincomicina, clindamicina, trimetoprim, bromexina, cloranfenicol, tianfenicol, florfenicol, abamectina, doramectina, eprinomectina, ivermectina, monensina, moxidectina e albendazol.

2.6 Perfil de ácidos graxos do leite de búfala

Para a análise do perfil de ácidos graxos livres (AGL), amostras de 50 mL de leite de búfala de conjunto foram coletadas em frasco estéril do tipo Falcon, identificados com a data e número da coleta, e congelados para análise no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da UFRGS. A quantificação de ácidos graxos das amostras de leite foi realizada por meio de cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID Modelo GC 2010, Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (Rtx-Wax, Restek, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), de acordo com a AOCS⁽¹⁸⁾. As amostras foram previamente esterificadas para permitir a análise pelo GC-FID. Os ácidos graxos foram identificados por comparação do tempo de retenção dos componentes com uma mistura padrão de referência de ácidos graxos FAME mix (Supelco 37 Component FAME Mix; Supelco Inc., Bellefonte, PA, EUA).

2.7 Análise Estatística

Os dados referentes ao monitoramento da qualidade do leite, com as devidas identificações de amostra, foram organizados em planilhas do programa Microsoft Excel 2013 para a obtenção de médias, desvio padrão e elaboração de tabelas. Os resultados foram submetidos à

avaliação no *Software RStudio 3.4* por análise de variância (ANOVA), em que foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com medidas repetidas no tempo e tendo as búfalas como unidade experimental. Após a realização da ANOVA, foi aplicado o teste de Tukey com nível de significância 5%, como forma de comparação entre os resultados obtidos.

3. Resultados

3.1 Rebanho bubalino experimental

O manejo de ordenha das búfalas foi realizado entre abril e dezembro de 2021, totalizando oito meses de lactação. As amostras, em um total de dez coletas, foram recebidas nos respectivos laboratórios em até 48 horas, com uma média de temperatura de $6.16 \pm 2.30^\circ\text{C}$. Por se tratar de um rebanho experimental em seu primeiro ano em sistema da ordenha, cinco fêmeas bubalinas múltiparas foram ordenhadas durante o período, identificadas como búfalas A, B, C, D e E.

3.2 Contagem de células somáticas (CCS) e análise da composição centesimal

Os resultados para CCS, proteína, gordura, lactose, SNG, ST, bem como as produções médias do leite cru bubalino produzido pelo rebanho da EEA-UFRGS estão apresentados na Tabela 1. A CCS média do rebanho foi $4,88 \times 10^5$ cél./mL, variando entre $6,7 \times 10^4$ cél./mL e $9,8 \times 10^5$ cél./mL, sendo que o menor valor foi obtido no início da lactação. Foi possível observar que houve diferença estatística significativa durante o período avaliado para gordura, proteína, SNG, ST, e produção, sendo as melhores médias obtidas no mês de outubro. Apenas a lactose se manteve sem alteração significativa ao longo da lactação, com uma média de 5.13 g/100g.

A média para gordura do leite bubalino produzido pelo rebanho experimental foi de 3,71 g/100 g, e o teor de gordura variou entre 1,71 g/100 g e 5,32 g/100 g. Já para a proteína, a média no período avaliado foi de 4,06 g/100 g, variando entre 3,45 g/100 g e 4,68 g/100 g. Os ST variaram de 11,54 g/100g a 15,84 g/100g, com uma média de 13,72 g/100g; enquanto que para SNG, neste estudo, a média foi de 10,00 g/100g, com valores variando de 9,09 g/100g a 10,51 g/100g. A menor média produtiva por búfala ocorreu no mês de julho, com 3,43 kg de leite por animal na ordenha, e o pico de produção foi no mês de outubro, com 5,97 kg de leite por animal.

As médias para composição centesimal individual e composição do leite das búfalas estão descritas na Tabela 2. Foi possível observar que as búfalas A e D apresentaram maior CCS, e também demonstraram uma redução significativa nos componentes do leite, como gordura e sólidos totais, além de produção significativamente menor quando comparadas as demais búfalas.

Tabela 1. Médias mensais das análises individuais de cinco búfalas para contagem de células somáticas (CCS), composição centesimal e produção de leite bubalino na EEA/UFRGS no ano de 2021

Análise	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Média
CCS (x 10 ³ cél/mL)	6,68 ^f ± 15,36	60,43 ^b ± 101,99	44,97 ^d ± 87,29	98,28 ^a ± 139,67	47,28 ^e ± 62,56	35,62 ^e ± 48,06	48,87 ± 29,89
Gordura (g/100 g)	2,09 ^c ± 1,07	3,09 ^{abc} ± 1,38	3,04 ^{bc} ± 1,17	3,91 ^{abc} ± 2,59	5,32 ^a ± 2,75	4,84 ^{ab} ± 3,31	3,71 ± 1,24
Proteína (g/100 g)	3,71 ^{bc} ± 0,33	3,51 ^c ± 0,42	3,82 ^{bc} ± 0,30	4,00 ^b ± 0,20	4,68 ^a ± 0,27	4,64 ^a ± 0,37	4,06 ± 0,49
Lactose (g/100 g)	5,42 ^a ± 0,15	5,00 ^a ± 0,54	5,23 ^a ± 0,16	5,06 ^a ± 0,35	5,04 ^a ± 0,15	5,06 ^a ± 0,24	5,13 ± 0,15
SNG (g/100 g)	9,94 ^{ab} ± 0,37	9,4 ^b ± 0,65	9,87 ^{ab} ± 0,25	9,87 ^{ab} ± 0,29	10,51 ^a ± 0,22	10,42 ^a ± 0,15	10,00 ± 0,41
ST (g/100 g)	12,03 ^c ± 1,28	12,49 ^c ± 1,59	12,91 ^c ± 1,29	13,79 ^{bc} ± 2,53	15,84 ^a ± 2,78	15,26 ^{ab} ± 3,42	13,72 ± 1,57
Produção (kg/animal)	4,00 ^{bc} ± 0,70	3,43 ^c ± 0,29	3,80 ^{bc} ± 0,52	5,05 ^{ab} ± 0,67	5,97 ^a ± 0,72	4,94 ^{ab} ± 0,60	4,53 ± 0,95

CCS: contagem de células somáticas. ST: sólidos totais. SNG: sólidos não gordurosos. *Letras iguais na mesma linha indicam a ausência de diferença estatística (p<0.05).

Tabela 2. Médias obtidas nas análises de amostras individuais de leite de cinco búfalas (A, B, C, D e E) durante a lactação para CCS, composição centesimal e produção de leite

Análise	A	B	C	D	E
CCS (x 10 ⁴ cél/mL)	124,36 ^a ± 141,73	12,97 ^b ± 31,11	3,39 ^b ± 4,65	77,42 ^{ab} ± 52,78	29,76 ^{ab} ± 110,03
Gordura (g/100 g)	3,15 ^{abc} ± 1,28	5,81 ^a ± 2,54	5,06 ^{ab} ± 1,99	1,82 ^c ± 1,34	2,49 ^{bc} ± 1,58
Proteína (g/100 g)	3,91 ^a ± 0,48	4,10 ^a ± 0,62	4,38 ^a ± 0,52	3,89 ^a ± 0,53	3,91 ^a ± 0,42
Lactose (g/100 g)	5,23 ^a ± 0,10	4,92 ^a ± 0,42	5,20 ^a ± 0,26	5,12 ^a ± 0,26	5,13 ^a ± 0,45
SNG (g/100 g)	10,01 ^a ± 0,45	9,86 ^a ± 0,73	10,33 ^a ± 0,29	9,82 ^a ± 0,57	9,87 ^a ± 0,36
ST (g/100 g)	13,17 ^{ab} ± 1,64	15,68 ^a ± 2,92	15,40 ^a ± 2,17	11,65 ^b ± 1,33	12,37 ^{ab} ± 1,64
Produção (kg leite/animal)	3,42 ^b ± 0,85	5,79 ^a ± 1,11	5,82 ^a ± 1,44	3,21 ^b ± 1,25	3,85 ^a ± 1,21

CCS: contagem de células somáticas. ST: sólidos totais. SNG: sólidos não gordurosos. *Letras iguais na mesma linha indicam a ausência de diferença estatística (p<0.05)

3.3 Parâmetros físico-químicos e microbiológicos

Na Tabela 3, estão descritos os resultados de densidade, índice crioscópico (IC) e acidez titulável do

leite bubalino. Assim como na composição centesimal, os resultados apresentaram diferença significativa entre os meses de agosto e setembro, com um aumento na acidez e na densidade.

Tabela 3. Médias mensais dos resultados físico-químicos e de Contagem Padrão em Placa do leite bubalino de conjunto produzido na Estação Experimental no ano de 2021

Análise	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
Densidade (g/cm ³)	1.039 ^a	1.035 ^d	1.035 ^{cd}	1.037 ^{bc}	1.037 ^{ab}	1.037 ^{ab}
Acidez (g ácido láctico/100 mL)	0.13 ^b	0.14 ^b	0.15 ^{ab}	0.16 ^{ab}	0.18 ^a	0.18 ^a
Índice Crioscópico (°C)	-0.527 ^{ab}	-0.524 ^b	-0.523 ^b	-0.528 ^{ab}	-0.536 ^a	-0.533 ^{ab}
CPP (x 10 ³ UFC/mL)	<8 ^b	19 ^b	139.5 ^a	9.5 ^b	17 ^b	<8 ^b

CPP: contagem padrão em placa. *Letras iguais na mesma linha indicam a ausência de diferença estatística (p<0.05).

A média obtida para densidade no leite produzido na Estação Experimental foi de 1.037 g/cm³, variando de 1.035 g/cm³ a 1.039 g/cm³. Para acidez titulável foi de 0.16 g ácido láctico/100 mL, variando de 0.13 g ácido láctico/100 mL a 0.18 g ácido láctico/100 mL, em que foi possível observar um aumento da acidez titulável quando o leite aumenta seus outros componentes, enquanto que, para o IC, a média foi de -0.528°C, variando de 0.523°C a -0.536°C. Com relação à qualidade microbiológica da ordenha, a média para a CPP foi de 3.35 x10⁴ UFC/mL, sendo o valor mais elevado obtido nas coletas de agosto com 1.39 x10⁵ UFC/mL.

3.4 Pesquisa de resíduos de antibióticos e antiparasitários

Nas amostras de leite de búfala analisadas, não foram identificados nenhum dos 46 resíduos de antibióticos ou antiparasitários pesquisados.

3.5 Perfil de ácidos graxos do leite de búfala

Os resultados apresentados neste estudo fornecem uma avaliação nutricional do perfil de AGL do leite de búfala produzido na EEA-UFRGS por meio de análise de cromatografia gasosa. Suas concentrações foram expressas mg/100 mg de gordura, conforme relatado na Tabela 4 os resultados para Ácidos Graxos Livres (AGL).

Tabela 4. Identificação do perfil de ácidos graxos livres (AGL) do leite de búfalas do rebanho da Estação Experimental no ano de 2021

Ácidos Graxos (mg de AGL/100 mg gordura)		Junho	Junho	Julho	Julho	Agosto	Agosto	Setembro	Setembro	Outubro	Novembro
Ácido Capróico	C10:0	0,268	0	0,312	0	0	0,333	0	0	0,236	0,122
Ácido Láurico	C12:0	0,802	0,475	1,136	0,89	0,710	0,759	0,849	1,295	0,946	0,67
Ácido Tridecilico	C13:0	0,406	3,36	1,856	2,243	4,006	0,674	2,935	2,584	3,003	1,102
Ácido Mirístico	C14:0	4,816	4,075	5,26	4,143	4,665	4,664	3,586	6,817	4,349	5,035
Ácido Miristoleico	C14:1	0,218	0,183	0,322	0,25	0,516	0,471	0,397	0,428	0,519	0,232
Ácido Pentadecanoico	C15:0	0,431	0,447	0,511	0,404	0,668	0,487	0,353	0,653	0,449	0,495
	C15:1	0,104	0,074	0,076	0,079	0,118	0,082	0,063	0,117	0,092	0,115
Ácido Palmítico	C16:0	18,031	16,302	17,294	14,718	25,653	16,662	10,107	21,525	16,857	25,134
Ácido Palmitoleico	C16:1	0,82	0,624	0,845	0,795	1,202	0,975	1,328	1,049	1,204	0,892
Ácido Margárico	C17:0	0,328	0,335	0,29	0,254	0,497	0,209	0,174	0,285	0,294	0,359
	C17:1	0,899	0,485	0,244	0,324	0,199	0,085	0,329	0,371	0,314	0,094
Ácido Estearico	C18:0	3,851	4,042	3,487	2,952	9,438	2,839	3,401	6,025	3,645	5,466
Ácido Oleico	C18:1- cis (n9)	11,844	7,846	9,659	8,545	16,134	10,462	7,089	12,61	8,688	13,455
Ácido Elaidico	C18:1- trans (n9)	1,029	0,768	0,866	0,719	2,770	0,115	0,951	1,768	1,211	1,287
Ácido Linoleico	C18:2- cis (n6)	0,435	0,299	0,432	0,382	0,254	1,06	2,364	0,63	1,408	0,671
Ácido Linolelaídico	C18:2- trans (n6)	0,107	0	0,095	0	0,721	0,359	0,217	0,242	0,335	0,129
Ácido α -Linolênico	C18:3 (n3)	0,243	0,089	0,244	0,17	0,332	0,229	0	0,363	0,137	0,222
Ácido γ -Linolênico	C18:3 (n6)	0,36	0,435	0,362	0,306	0,299	0,558	0	0	0,427	0,435
Ácido Araquídico	C20:0	0,051	0	0,053	0	0,170	0,094	0	0	0	0
	C20:2 (n6)	0,188	0	0,276	1,584	0,067	8,105	11,668	0,155	5,826	0,739
	C20:3 (n3)	0	0	0	0	0,076	0,458	0,488	0	0,261	0
Ácido dihomo- γ -linolênico	C20:3 (n6)	0	0	0	0	0,059	0,397	0,634	0	0,495	0
Ácido Araquidônico	C20:4 (n6)	0	0	0	0	0	0,889	1,043	2,63	0,459	0
Ácido Heneicosílico	C21:0	0	0	0	0	0	0,286	0,215	0	0	0
	C22:2	0,601	0	0,741	4,726	0,141	30,915	23,726	0,38	12,496	0
Ácido Tricosanóico	C23:0	0	0	0	0	0,092	1,365	1,234	0	0,602	0
Total (mg de AGL/100 mg de gordura)		45,83	39,839	44,361	43,485	56,657	69,234	83,534	73,15	59,928	64,253

Considerando-se os AGL analisados, foi possível observar a predominância de Ácidos Palmítico (C16:0) e Oleico (C18:1- cis (n9)) em quase todas as amostras. Nestes parâmetros, a correspondente à segunda coleta do mês de junho, teve o menor teor de AGL (<40 mg/100 mg

de gordura) e menor frequência (16 dos 26 AGL analisados), enquanto a primeira coleta do mês de setembro foi a mais abundante (83,5 mg/100 mg de gordura) e também teve maior frequência (26 dos 26 AGL analisados). Houve aumento da proporção de ácidos

graxos poliinsaturados e diminuição dos monoinsaturados entre setembro e outubro, enquanto a maior quantidade de ácidos graxos saturados ocorre nas coletas de setembro. Observou-se que a segunda coleta de junho, apesar de ser a de menor frequência de AGL, apresentou a proporção de ácidos graxos saturados mais alta (29,0 dos 39,9 mg de ácido graxo por 100 mg de gordura).

4. Discussão

Embora algumas características da composição do leite bubalino produzido na Estação Experimental da UFRGS tenham apresentado mais variabilidade quando comparado aos dados encontrados na literatura, sabe-se que muitos desses rebanhos bubalinos estão estabelecidos há mais tempo e em um estágio de seleção produtiva mais avançado, possibilitando então a obtenção de resultados de composição mais estáveis. No entanto, os dados obtidos neste estudo, através da implantação do sistema de ordenha e com a adoção de medidas corretivas, visaram o estabelecimento da produção deste rebanho bubalino, embasando o desenvolvimento de outras pesquisas, bem como a produção de derivados. Além disto, o Brasil não possui legislação federal específica para o leite bubalino, dessa forma, deve-se atender o estabelecido na Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018⁽⁷⁾, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e apenas o Estado de São Paulo possui limites específicos para o leite de búfala, estabelecidos na Resolução SAA – 03⁽¹⁹⁾.

Um dos parâmetros para avaliação da qualidade microbiológica do leite é a CCS, que pode ser elevada em casos de mastite, uma inflamação na glândula mamária que pode promover também outras alterações na composição do leite, como a gordura, proteína e lactose, levando à redução destes componentes⁽²⁰⁾. Com exceção dos meses de julho e setembro, nos demais meses os resultados obtidos para CCS apresentaram-se abaixo do estabelecido pela IN 76 de $5,0 \times 10^5$ cél./mL⁽⁷⁾. Entretanto, foram superiores ao reportado por Godinho et al.⁽⁴⁾ para leite bubalino no Rio Grande do Sul, bem como aos valores observados em pesquisas anteriores no Brasil^(21, 22). De acordo com um estudo realizado com rebanhos de búfalas leiteiras na Itália, a CCS de $2,0 \times 10^5$ cél/mL deve ser utilizado como um ponto de corte para mastite subclínica, pois pode ser associado com alterações na composição do leite, influenciando diretamente na produção de derivados⁽²³⁾. O mesmo foi observado por Medeiros et al.⁽²⁴⁾, em que as amostras que eram positivas aos exames microbiológicos apresentaram CCS acima de $2,80 \times 10^5$ cel/mL. É preciso ressaltar que, essa elevação na CCS durante o período avaliado, ocorreu devido as búfalas A e D, que apresentaram contagens significativamente maiores que as demais, e também demonstraram uma redução significativa nos

componentes do leite, como gordura e sólidos totais, além de baixa produção quando comparadas as búfalas B, C e E, que estavam sob as mesmas condições. Ambas búfalas se encontravam no mesmo estágio de lactação que as demais (B, C e E), entretanto, a média de idade das búfalas A e D era de 18 anos, enquanto a média das búfalas B, C e E era de 6 anos.

Os valores de gordura obtidos nas primeiras coletas, variando de 2,09 à 3,09 g/100 g, se apresentaram abaixo tanto do exigido na IN 76⁽⁷⁾ para leite cru quanto na Resolução SAA – 03⁽¹⁹⁾ para leite bubalino. Os valores de gordura também foram inferiores aos relatados em estudos realizados com rebanhos bubalinos na Itália⁽²²⁾ e na Índia⁽²⁵⁾. Os valores de proteína foram semelhantes aos estudos acima referidos. O teor de SNG representa parte do resíduo obtido após a evaporação completa da água do leite, como proteínas, lactose e minerais, e é considerado como parâmetro na indicação da qualidade do leite; já os ST, por englobar o teor de gordura, é utilizado como um parâmetro indicador do rendimento na fabricação de queijos, iogurtes e outros derivados⁽²⁵⁾. As médias de SNG e ST foram muito próxima de outros estudos realizados com leite bubalino^(24, 26, 27). Para a produção média, foi possível observar uma diferença significativa nos níveis produtivos, principalmente a partir do mês de outubro em que os animais saíram do campo nativo (CN) e tiveram acesso à pastagem cultivada de aveia e azevém, que possui fibra de melhor qualidade quando comparada ao CN, apresentando o pico produtivo aos seis meses de lactação, em média. Nos meses de outubro e novembro, quando foram obtidas as maiores médias para composição do leite, os resultados foram semelhantes aos reportados para o leite bubalino produzido no Estado do Rio Grande do Sul⁽⁴⁾ e em outros Estados do Brasil^(21, 27), bem como superiores aos reportados por Pignata et al.⁽³⁾ para a Bahia. Nesse mesmo período, a composição do leite estava adequada aos valores estabelecidos pela IN 76⁽⁷⁾ para leite cru bovino, e pela a SAA – 03⁽¹⁹⁾ para leite cru bubalino. Essa melhora na qualidade do leite foi uma consequência de ações corretivas, como a troca da principal fonte de fibra da alimentação das búfalas, o aumento da oferta de silagem e o estabelecimento de uma rotina de ordenha, que foram determinadas a partir do recebimento dos resultados das primeiras coletas. Foram providenciadas adequações referentes ao fornecimento de alimento para o rebanho através da suplementação de fibra, com o aumento do fornecimento de silagem de 0.9% para 1.8% do peso vivo, em uma maior frequência semanal, que juntamente ao acesso à pastagem cultivada de aveia-preta e azevém a partir do mês de setembro, possibilitou a obtenção de uma melhora na qualidade do leite.

Nas avaliações do leite bubalino da EEA-UFRGS, os parâmetros físico-químicos foram avaliados com as análises de densidade, IC e acidez do leite de conjunto. Uma elevação da densidade do leite foi observada com o

aumento da gordura e dos sólidos totais do leite, e se apresentou superior aos limites da legislação vigente para o leite bovino, e inclusive superior ao limite estabelecido pela legislação estadual específica para leite bubalino⁽¹⁹⁾. Entretanto, os valores obtidos estão de acordo com o observado na literatura para leite bubalino⁽⁴⁾, que apresenta essa elevada densidade devido à conformação dos seus glóbulos de gordura, que são maiores que os do leite de vaca bovina, apresentando maior densidade⁽⁵⁾. O leite bubalino produzido pelo rebanho experimental apresentou valores de acidez e IC em conformidade com o estabelecido pela legislação para leite cru bovino⁽⁷⁾, com exceção da média do primeiro mês que estava abaixo da instrução normativa. Foi possível observar uma elevação na acidez quando o leite aumentou demais componentes, reforçando a correlação observada entre a acidez e o teor de SNG no leite bubalino por Hofi et al.⁽²⁹⁾. O IC, que é a medida do ponto de congelamento do leite em relação ao da água, é uma prova utilizada na indústria para detectar se houve fraude no leite por adição de água⁽³⁰⁾. A média obtida para IC do leite produzido na Estação Experimental foi semelhante aos resultados obtidos para rebanhos da Itália⁽³¹⁾, e está de acordo com o exigido na legislação para leite cru⁽⁷⁾.

A CPP se manteve abaixo do limite de 3.0×10^5 UFC/mL estabelecido pela IN 76⁽⁷⁾ durante todo o período avaliado no presente trabalho. Esses resultados demonstram uma boa qualidade higiênica na manipulação e na higienização dos materiais, e são indicativos de um efeito positivo da adequação aos protocolos de Boas Práticas Agropecuárias na ordenha. Os limites máximos de resíduos (LMR) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal são estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51 de 19 de dezembro de 2019⁽³²⁾, que exige a pesquisa periódica de resíduos no leite em realizadas em laboratórios da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários, composta pelos Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária – LFDAs e pelos laboratórios credenciados pelo MAPA. Neste trabalho foi possível observar que os resultados estavam em conformidade, pois não foi detectado resíduos dos princípios ativos pesquisados.

Como o perfil de AGL do leite de ruminantes é influenciado pela alimentação, especialmente gramíneas e leguminosas^(33, 34), foi possível correlacionar as alterações observadas com a nutrição das búfalas. Sendo a base da alimentação do rebanho composta por fibras, como a pastagem e da silagem, a partir da melhora do aporte nutricional do rebanho dessas fontes, observou-se um aumento no teor e na frequência dos AGL entre as amostras de junho e setembro, assim como ocorreu com os demais parâmetros de composição do leite bubalino. Os resultados encontrados para C16:0 e C18:1- cis (n9) estão de acordo com o encontrado por Ahmad et al.⁽³⁵⁾ e

Gagliostro et al.⁽³⁶⁾, sendo que os últimos também observaram que AGL de cadeia longa (\geq C18) são frequentes em amostras de leite de búfala. Enquanto AGL de cadeias curtas contribuem para aroma dos derivados de leite, aqueles de cadeias longas são fatores importantes para características tecnológicas destes produtos. Não foi encontrado na literatura resultados semelhantes para os Ácidos cis-11,14-Eicosadienóico e cis-13,16-Docosadienóico, embora a presença destes AGLs tenha sido documentada em plantas da família *Limnanthaceae*, sendo possível, portanto, que estes resultados tenham origem alimentar⁽³⁷⁾. Ahmad et al.⁽³⁵⁾ também relatou que a proporção de ácidos graxos saturados seria mais que o dobro daquela dos insaturados (70,8 e 29,2%, respectivamente). No entanto, neste trabalho proporção semelhante ocorreu apenas na coleta 2 (72,9 e 27%). Nas coletas de setembro houve, inclusive, prevalência de ácidos graxos poliinsaturados. Ácidos graxos insaturados são extremamente relevantes para a saúde humana, principalmente por seu papel na redução do colesterol total e lipoproteínas de baixo peso molecular sem prejuízo àquelas de alta densidade⁽³⁸⁾.

5. Conclusão

Nesta pesquisa, houve a implementação de um sistema de produção leiteira bubalina na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA-UFRGS). Com base na adoção de uma rotina de ordenha e na oferta de alimentos, foram obtidos resultados satisfatórios de qualidade de leite. A gestão dos dados produtivos possibilitou uma elevação dos componentes do leite, como os sólidos totais, atendendo a legislação vigente para leite cru bovino e bubalino, bem como a bibliografia pesquisada para leite bubalino. O monitoramento dos padrões de identidade e qualidade do leite bubalino produzido na Estação Experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul subsidia a possibilidade do estabelecimento do rebanho com um controle mais profícuo, com perspectiva de expansão do rebanho experimental e padronização dos animais, além de viabilizar a produção de derivados.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesses.

Contribuições do autor

Conceituação: V. L. Di Domenico e A. de S. da Motta. *Investigação:* V. L. Di Domenico, A. R. Paiva, L. Jank e A. de S. da Motta. *Metodologia:* V. L. Di Domenico e A. de S. da Motta. *Curadoria de dados:* V. L. Di Domenico, A. R. Paiva, L. Jank, C. A. Tomaszewski e A. de S. da Motta. *Supervisão:* A. de S. da Motta. *Redação (esboço original):* V. L. Di Domenico, A. R. Paiva e A. de S. da Motta. *Redação (edição e revisão):* V. L. Di Domenico e A. de S. da Motta.

Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Estação Experimental Agronômica (EEA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Associação Sulina de Criadores de Búfalos (ASCRIBU).

Referências

1. FAO/STAT. Food And Agriculture Organization of The United Nations Statistics. 2021. <<http://faostat.fao.org/>>
2. OECD/FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030. OECD Publishing, Paris. 2021. <<https://doi.org/10.1787/19428846-en>>
3. Pignata MC, Fernandes SAA, Ferrão SPB, Faleiro AS, Conceição DG. Estudo comparativo da composição química, ácidos graxos e colesterol de leites de búfala e vaca. *Revista Caatinga*, Mossoró; 2014. v. 27, n. 4, p. 226–233, out.–dez.
4. Godinho FMS, Krug M, Muller A, Jank L, Tomaszewski CA, Hillesheim DR, Kinast EJ, Frazzon APG, Motta AS. Microbiological and physicochemical characteristics of buffalo milk used for dairy products in southern Brazil. *Journal of Dairy Research*; 2020. v. 87, n. 4, pp. 463–468. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S002202992000093X>
5. Ménard O, Ahmad S, Rousseau F, Briard-Bion V, Gaucheron F, Lopez C. Buffalo vs. cow milk fat globules: Size distribution, zeta-potential, compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. *Food Chemistry*; 2010. 120;2:544–551. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.053>
6. FAO e IDF. Guia de boas práticas na pecuária de leite. Produção e Saúde Animal Diretrizes; 2013. Roma.
7. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 76 de 26 de novembro de 2018. Dispõe sobre identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF: Seção 1, 30 nov. 2018.
8. Domenico VL, Motta AS. Manual de Boas Práticas Agropecuárias na Ordenha: Bubalinocultura. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2022.
9. ISO 13366-2. Milk – Enumeration of somatic cells – Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters. International Organization for Standardization; 2006. Geneva.
10. ISO 9622. Milk and liquid milk products – Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry. International Organization for Standardization; 2013. Geneva.
11. MAPA. Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal - Método 2.12; 2019. 2ª Edição.
12. MAPA. Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal - Método 2.2; 2019. 2ª Edição.
13. ISO 5764. Milk — Determination of freezing point — Thermistor cryoscope method (Reference method). International Organization for Standardization; 2009. Geneva.
14. ISO 4833-1. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique. International Organization for Standardization; 2013. Geneva.
15. Rübensam G, Barreto F, Hoff RB, Kist TL and Pizzolato TM. A liquid-liquid extraction procedure followed by a low temperature purification step for the analysis of macrocyclic lactones in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*; 2011. 705, p. 24–29.
16. Jank L, Martins MT, Arsand JB, Motta TMC, Hoff RB, Barreto F and Pizzolato TM. High-throughput method for macrolides and lincosamides antibiotics residues analysis in milk and muscle using a simple liquid-liquid extraction technique and liquid chromatography–electrospray– tandem mass spectrometry analysis (LC–MS/MS). *Talanta*; 2015. 144, p. 686–695.
17. Barreto F, Ribeiro C, Hoff RB and Costa TD. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in poultry, swine, bovine and fish by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*; 2016. 1449, p. 48–53.
18. AOCS. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. 2009.
19. São Paulo (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Resolução SAA nº 03 de 10 de janeiro de 2008: Normas técnicas sobre as condições higiênicas-sanitárias mínimas necessárias para aprovação, funcionamento e reaparelhamento dos estabelecimentos destinados a leite e produtos lácteos; 2008. Artigo 134.
20. Thakur S, Singh M, Aseri GK, Verma A, and Khan SS. Isolation and characterization of mastitis pathogens and milk composition changes in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) during winter season. *Indian Journal of Animal Research*; 2018. 52(2), p. 276–280.
21. Filho MHBC, Júnior DML, Rangel AHN, Silva FJS, Novaes LP, Júnior JGBG, Silva MJMS, Moreno GMB. Season and buffalo milk quality in Rio Grande do Norte state. *Acta Veterinaria Brasileira*; 2014. 8, 201–208.
22. Pasquini M, Osimani A, Tavoletti S, Moreno I, Clementi F and Trobetta MF. Trends in the quality and hygiene parameters of bulk Italian Mediterranean buffalo (*Bubalus bubalis*) milk: A three year study. *Animal Science Journal*; 2017. 89, 176–185.
23. Tripaldi C, Palocci G, Miarelli M, Catta M, Orlandini S, Amati S, Bernardini R, Castillo G. Effects of mastitis on buffalo milk quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*; 2010. 23, 1319–1324.
24. Medeiros ES, Barbosa SBP, Jatobá RB, Azevedo SS, Junior JWP, Saukas TN, de Albuquerque PPF, Mota RA. Perfil da contagem de células somáticas na infecção intramamária em búfalas na Região Nordeste do Brasil. *Pequisa Veterinária Brasileira*; 2011. 31, 219–223.
25. Balusami C. Milk constituents of non-descript and graded murrah buffaloes in Tamil Nadu, India. *Indian Journal of Natural Sciences*; 2015. 5:0976 – 0997, p. 2475–2479.
26. Bassbasi M, Platikanov S, Tauler R and Oussama A. FTIR-ATR determination of solid non fat (SNF) in raw milk using PLS and SVM chemometric methods. *Food Chemistry*; 2014. 146, 250–254.
27. Costa MHBFO, Lima DMJr, Rangel AHN, Silva FJS, Novaes LP, Galvão JGBJr, Silva MJM, Moreno GMB. Sazonalidade e variação na qualidade do leite de búfalas no Rio Grande do Norte. *Acta Veterinaria Brasileira*; 2014. 8, 201–208.
28. Bailone RL, Borra RC, Roça RO, Aguiar L, Harris M. Quality of refrigerated raw milk from buffalo cows (*Bubalus bubalis*) in different farms and seasons in Brazil. *Ciência Animal Brasileira*; 2017. 18, 1–12.
29. Hofi AA, Rifaat ID, Khorshid MA. Studies on some physicochemical properties of Egyptian buffaloes and cows' milk. I. Freezing point. *Indian Journal of Dairy Science*; 1966. 19:113–

117.

30. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Depressão do Ponto de Congelamento do Leite Fluido. MET POA (Métodos de Ensaio Produtos de Origem Animal); 2011.

31. Pesce A, Salzano C, Felice A, Garofalo F, Liguori S, Santo A, Palermo P, Guarino A. Monitoring the freezing point of buffalo milk. *Italian Journal of Food Safety*; 2016. 5:5691.

32. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa Nº 51, de 19 de dezembro de 2019 - estabelece a lista de limites máximos de resíduos (LMR), ingestão diária aceitável (IDA) e dose de referência aguda (DRfA) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal; 2019.

33. Kalač P & Samková E. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: a review. *Journal of Animal Science*; 2010. 55: 521–537.

34. Bauman DE, McGuire MA & Harvatin KJ. Mammary gland, milk biosynthesis and secretion. In: *Encyclopedia of Dairy Sci-*

ences, 2011. Elsevier Inc., p. 352–358.

35. Ahmad S, Anjum FM, Huma N, Sameen A, Zahoor T. Composition and physico-chemical characteristics of buffalo milk with particular emphasis on lipids, proteins, minerals, enzymes and vitamins. *Journal of Animal and Plant Sciences*; 2013. Jan 1;23(Suppl 1): p. 62-74.

36. Gagliostro GA, Patiño EM, Sanchez Negrette M, Sager G, Castelli L, Antonacci LE, Raco F, Gallelo L, Rodríguez MA, Cañameras C, Zampatti ML. 2015. Perfil de ácidos graxos do leite de búfalas a pasto recebendo uma mistura de óleo de soja e linhaça na dieta. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*; 2015. Maio;67: p. 927-34.

37. Balcao VM, Malcata FX. Lipase catalyzed modification of milkfat. *Biotechnology advances*; 1998. Mar 1;16(2):309-41.

38. Mihaylova, G., & Peeva, T. Trans fatty acids and conjugated linoleic acid in the buffalo milk. *Italian Journal of Animal Science*; 2007. v.6, p. 1056–1059.