

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

MOZART EMILIO VAZ ERICHSEN SIMÃO

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS RELACIONADOS COM A
ESTABILIDADE DO LEITE AO ETANOL

Ponta Grossa/PR, 2022

MOZART EMILIO VAZ ERICHSEN SIMÃO

Trabalho de conclusão de curso
apresentado para banca examinadora da
Universidade Estadual de Ponta Grossa,
como requisito para obtenção de título de
bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Prof^{fa}. Dr^a Adriana de Souza Martins

Coorientadora: Msc. Thais Fátima Ferreira Neves

Ponta Grossa/PR, 2022.

Mozart Emilio Vaz Erichsen Simão

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS RELACIONADOS COM A
ESTABILIDADE DO LEITE AO ETANOL

Trabalho de conclusão de curso
apresentado para banca examinadora da
Universidade Estadual de Ponta Grossa,
como requisito para obtenção de título de
bacharel em Zootecnia.

Banca examinadora:

Ponta Grossa, 23 de fevereiro de 2022.

Prof. Dra. Adriana de Souza Martins - Orientadora

Doutora em Zootecnia.

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof. Dra. Luciana da Silva Leal Karolewski

Doutora em Veterinária

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof. Dr. Guilherme de Almeida S. Tedrus

Doutor em Engenharia de Alimentos

Universidade Estadual de Ponta Grossa

RESUMO:

Um principal parâmetro estudado a estabilidade do leite, pois, o leite que apresenta instabilidade pode trazer resultados indesejáveis pela indústria e pelo produtor. Neste contexto, objetivou-se avaliar a estabilidade do leite na prova do álcool em vacas da raça Holandesa. Foram analisadas 252 amostras de leite. Destas amostras foram analisadas contagem de células somáticas (CCS), acidez titulável e crioscopia. E foi avaliado o DEL (dias em leite). Os animais foram mantidos no Sistema *Tie stall* e ordenhados três vezes ao dia. Estabilidade do leite foi analisada pela prova do etanol, nas concentrações 72, 76, 78 e 80% (v/v). Foi considerado LINA, leite que precipitou em solução de etanol menor que 76% v/v. A estabilidade das amostras foi classificada em três níveis, baixa estabilidade, amostras que precipitaram entre 76% v/v ou menos. Foram consideradas intermediárias amostras que precipitaram entre 78 a 80% v/v, alta estabilidade as que mostraram estáveis ao etanol 80% v/v. Os resultados estatísticos foram inicialmente avaliados de forma descritiva, usando procedimentos UNIVARIANTE e FREQ, calcular média, mediana, moda, amplitude, coeficiente de variação, avaliação da normalidade, LINA, estabilidade (teste Shapiro-Wilk). Já no que se refere aos valores de dias em leite, escore de células somáticas (ECS), acidez titulável e crioscopia, foram avaliadas usando análise de variância, procedimento GLM opção LSmeans para separar as médias Para obter estes resultados foi usado programa do SAS®. Os valores P foram considerados significativos a $< 0,05$. Observou-se que os animais com CCS alta, DEL prolongado apresentaram maior instabilidade do leite.

Palavras-chave: Estabilidade térmica do leite, teste do alizarol, qualidade do leite.

ABSTRACT:

A main parameter studied is the stability of milk, because milk that presents instability can bring undesirable results by the industry and the producer. In this context, the objective was to evaluate the stability of milk in the alcohol test in Holstein cows. 252 milk samples were analyzed. From these samples, somatic cell count (SCC), titratable acidity and cryoscopy were analyzed. And the DEL (days in milk) was evaluated. The animals were kept in the Tie stall System and milked three times a day. Milk stability was analyzed by the ethanol test, at concentrations 72, 76, 78 and 80% (v/v). LINA was defined as milk that precipitated in an ethanol solution of less than 76% v/v. Sample stability was classified into three levels, low stability, samples that precipitated between 76% v/v or less. Samples that precipitated between 78 to 80% v/v were considered intermediate, those that were stable to 80% v/v ethanol were considered high stability. Statistical results were initially evaluated descriptively, using UNIVARIANT and FREQ procedures, calculating mean, median, mode, amplitude, coefficient of variation, normality assessment, LINA, stability (Shapiro-Wilk test). As for the values of days in milk, somatic cell score (ECS), titratable acidity and cryoscopy, they were evaluated using analysis of variance, GLM procedure option LSmeans to separate the means. .P values were considered significant at < 0.05 . It was observed that animals with high CCS, prolonged SLI showed greater milk instability.

Keywords: Thermal stability of milk, alizarol test, milk quality

Lista de Tabelas

Tabela 1 Análise descritiva dias em leite, contagem de células somáticas, acidez e crioscopia..... 11

Tabela 2 Valores médios das variáveis dias em leite (DEL), escore de células somáticas (ECS), acidez titulável e crioscopia (CRIO) de amostras de leite de vacas da raça Holandesa em função do nível de estabilidade (alta, intermediária e baixa).....13

Lista de Abreviatura e Siglas:

APCBRH	Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa
CS	Células Somáticas
CCS	Contagem de Células Somáticas
CBT	Contagem Bacteriana Total
DEL	Dias em leite
ECS	Escore de células somáticas
ECC	Escore de Condição Corporal
FR	Frequência Respiratória
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN	Instrução Normativa
LINA	Leite Instável Não Ácido
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
pH	Potencial hidrogeniônico
SIMEPAR	Sistema Meteorológico do Paraná
UFC	Unidade Formadora de Colônia

Sumário

1- INTRODUÇÃO.....	8
2- MATERIAL E MÉTODS.....	10
3- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
4- CONCLUSÕES.....	14
5- REFERÊNCIAS.....	14

1- INTRODUÇÃO

Tendo em vista o aumento exponencial da população brasileira até 2026, chegando a 219 milhões de pessoas segundo IBGE (2014), o consumo de leite no país tende a acompanhar este crescimento, uma vez que o leite constitui uma fonte nutricional importante na alimentação humana. Diante desse cenário, pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de melhorar a qualidade do leite, visando atender à demanda dos consumidores que estão cada vez mais exigentes.

Desta maneira, normativas foram elaboradas orientando sobre os padrões a serem seguidos, visando garantir a qualidade da matéria prima. Neste sentido, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceu, através das normativas 76/77, especificações a serem seguidas. De acordo com a legislação o leite deve apresentar contagem de células somáticas (CCS) de no máximo 500.000 CS/mL, contagem bacteriana total (CBT) máxima de 300.000 UFC/mL, teores de proteína de 2,9g/100g de leite, gordura 3,0g/100g, lactose anidra de 4,3g/100g, e também deve apresentar acidez de 0,14 a 0,18g/de ácido láctico/100 mL, índice crioscópico entre $-0,530^{\circ}\text{H}$ à $-0,555^{\circ}\text{H}$, e ser estável na prova do álcool com concentração mínima de 72% v/v (MAPA, 2018).

A estabilidade refere-se à resistência do leite ao tratamento térmico industrial, sem sofrer precipitação (BRASIL *et al.*, 2015). A análise de estabilidade do leite de acordo com a legislação é realizada por meio do teste do etanol/alizarol de 72% (v/v) (MAPA,2018). Esse teste consiste em misturar duas partes iguais de leite e álcool, e observar sua precipitação/coagulação. Resultados positivos podem ser causados devido ao crescimento microbiano, que pode levar a um leite ácido (BATTAGLINI *et al.*, 2013). Também ocorre acidez do leite em natura devido à presença de albumina, caseína, fosfatos e dióxido de carbono, considerando acidez natural do leite (ARAÚJO, A.P. *et al*).

Por muito tempo a estabilidade do leite esteve relacionada apenas com a acidez, causada pela ação dos micro-organismos. Porém, estudos mostraram que existem outros fatores causadores. No leite instável, a principal alteração identificada é a perda da estabilidade da caseína ao etanol, resultando em coagulação, sem apresentar acidez elevada, sendo denominado Leite instável não ácido (LINA) (ZANELA *et al.*, 2004). O LINA apresenta variações na sua composição com relação ao leite normal, como menores teores de lactose e sólido desengordurado (ZANELA *et al.*, 2015). Com os resultados positivos para LINA, haverá transtornos para o produtor, que terá seu leite rejeitado pela indústria. Caso seja carregado, o leite pode ter seu processamento comprometido, podendo coagular nas placas do pasteurizador, atrasando assim todo o processo de fabricação de lácteos. Segundo o MAPA, antes do leite ser transferido do tanque para o caminhão, o motorista deve coletar uma amostra, homogeneizá-la e fazer o teste do etanol na concentração mínima de 72% (v/v). Em seguida observar a presença ou não de precipitação, para considerar se o leite está estável ou não. Se ocorrer a precipitação, o leite não é carregado, causando prejuízos para o produtor e para a indústria.

Existem vários fatores que podem afetar a estabilidade do leite, entre eles os fatores nutricionais, a mastite, o estágio da lactação, número de lactações, estresse térmico, entre outros. No que se refere a fatores nutricionais, Barbosa *et al.* (2012) em sua pesquisa mostraram que em determinadas épocas do ano, como no outono e no verão tem uma menor oferta de alimento da sua dieta. Isto devido a sazonalidade da pastagem de outono, e no verão a cultura da soja ocupa o lugar da pastagem das vacas, assim sendo fornecido menor quantidade de alimento. Em decorrência disso, ocorre maior incidência de LINA nestas épocas do ano. Deste modo, é possível concluir que propriedades que utilizam o pasto como parte da dieta das vacas, não têm seus requerimentos nutricionais atendidos uma vez que, na entressafra, as pastagens reduzem sua qualidade e o consumo de matéria seca diminui, ocorrendo assim menor estabilidade do leite.

Com relação ao efeito da mastite sobre a instabilidade do leite, não há consenso entre os pesquisadores, havendo trabalhos que mostram a influência da mastite sobre a instabilidade e, por outro lado, trabalhos que não registraram efeito da mastite sobre a estabilidade do leite. Oliveira *et al.* (2011) relataram maior estabilidade em leites com menor CCS do que leites com alta CCS. Zanella (2004) afirma não haver relação entre mastite e a instabilidade do leite.

Sobre o estágio lactacional, Marques *et al.* (2010) mostraram que as vacas com estágio lactacional avançado apresentaram menor estabilidade térmica do leite, ocorrendo assim uma elevada incidência de LINA, apesar de terem sido alimentadas de acordo com as exigências nutricionais.

O estresse por temperaturas elevadas promove significativas alterações no sistema fisiológico de vacas leiteiras, reduzindo o consumo de alimentos, a frequência respiratória (FR) o aumento ou a diminuição da FR depende da quantidade e duração do em que o animal está sendo submetido , conseqüentemente, a produção de leite (MARTELLO, 2006). Abreu *et al.* (2011) submeteram vacas da raça Holandesa a temperaturas elevadas e sem acesso à sombra em um período de cinco dias. Os autores verificaram redução significativa na estabilidade do leite ao teste do álcool.

Além dos fatores citados, há também os fatores metodológicos como a concentração de álcool utilizada no teste, leite recém ordenhado e a temperatura do leite no momento do teste.

Segundo Da Silva *et al.* (2012) que fez pesquisa com etanol com quatro diferentes concentrações mostrou-se que quanto maior a concentração maior era a quantidade de amostras que se mostraram instáveis. Já no que se refere à temperatura do leite no momento do teste, Costa *et al.*(2004) mostra que em 55 amostras obteve-se diferenças significativas para leite com temperaturas mais elevadas para coagular utilizou-se álcool com maior concentração para coagular. O pH encontrado no leite recém ordenhado dos bovinos leiteiros pode variar

entre 6,4 a 6,8, e são indicadores da qualidade sanitária e da estabilidade térmica do leite citado por VENTURINI *et al*, (2007).

Estes também podem interferir no resultado de estabilidade do leite na prova do álcool (EMBRAPA 2010). A IN 76/77 2018, determina a concentração mínima do álcool utilizado na prova de estabilidade como 72%. Quanto maior a concentração do etanol, maiores as chances de precipitação do leite, ou seja, mais rigoroso fica o teste.

Neste contexto foi realizada esta pesquisa, com objetivo de avaliar a relação da estabilidade do leite na prova do álcool em diferentes concentrações, em vacas da raça Holandesa, com relação em dias em leite (DEL), contagem de células somáticas (CCS), escore de contagem de células somáticas, acidez titulável e crioscopia.

2- MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em uma propriedade leiteira localizada no município de Carambeí-PR (latitude 24° 55' 04" S e longitude 50° 05' 50" W), no período de janeiro a março de 2020. A temperatura média anual da cidade de Carambeí-PR é de 21°C e a precipitação é de 188 mm (SIMEPAR, 2020).

Foram coletadas amostras de leite de sessenta e três animais da raça Holandesa, quinzenalmente, totalizando 252 amostras no período de janeiro a março. As vacas estavam entre a 1ª e a 7ª ordem de parto, com média de 175,5 dias em lactação (DEL). Os animais foram mantidos no sistema *Tie Stall*, em baias individuais, em uma instalação com túnel de vento, com controle de temperatura feito por meio de painel eletrônico, com temperatura média de 22°C e umidade de 87%. A alimentação dos animais foi composta de silagem de milho, silagem de cevada, pré-secado de azevém, concentrado, resíduo de cervejaria,

caroço de algodão e palha de trigo, fornecidas logo após cada ordenha. A água era fornecida à vontade em bebedouros com boias.

A ordenha foi realizada três vezes ao dia, às 05h00, às 14h00 e às 22h00, sendo as amostras de leite colhidas na segunda ordenha. As amostras de leite foram colhidas em frascos de 200mL identificados e, posteriormente, armazenados em caixas isotérmicas com gelo. Após a colheita, as amostras foram encaminhadas para o laboratório do Centro Mesorregional de Excelência em Tecnologia do Leite (CMETL) pertencente à UEPG, para a realização das análises. No laboratório, os frascos foram destampados e colocados em refrigeração por 11h, na temperatura de 5°C, para que ocorresse a liberação do CO₂ dissolvido, prevenindo assim possíveis interferências nas análises realizadas com o etanol.

A análise da estabilidade do leite foi realizada por meio do teste do etanol seguindo a metodologia de Tronco (2010). O teste foi realizado em quatro concentrações do álcool: 72% (concentração mínima exigida pela legislação), 76%, 78% e 80% (v/v). Esta última concentração é utilizada por várias cooperativas da região. Foram pipetados 2 mL de leite e 2 mL da solução de álcool nas concentrações mencionadas, em placa de *petri*. Em seguida a amostra foi homogeneizada e depois analisada visualmente, observando a presença ou não de precipitação/coagulação, indicando assim a estabilidade ou não do leite.

Os resultados de coagulação foram classificados em três níveis: alta (A): amostras com estabilidade em etanol acima de 80% v/v; intermediária (I): amostras com estabilidade em etanol entre 78 – 80% v/v; baixa (B): amostras com estabilidade em etanol entre 72 – 76% v/v.

A acidez titulável do leite foi determinada por titulometria, em duplicata, utilizando a solução Dornic (Hidróxido de sódio - NaOH), conforme metodologia descrita por Tronco (2010). Foram pipetados 10 mL de leite em um erlenmeyer, adicionando-se de três a cinco gotas do indicador fenolftaleína 1%. Em seguida,

realizou-se a titulação com a solução de NaOH, até que a amostra atingisse o ponto de viragem (coloração rósea). O leite de vaca integral apresenta um pH entre 6,6 e 6,8 e acidez titulável entre 14°D a 18°D em ácido láctico. Um leite considerado ácido tem um valor >18°D e um leite considerado básico menor < que 14°D (Rodrigues *et al.* 1995).

O índice crioscópico foi analisado por meio de um Crioscópio Eletrônico da marca Minilak[®]. Onde a crioscopia determina qual é a temperatura do congelamento do leite (SANTOS; FONSECA, 2020). O padrão determinado pela MAPA é de -0,530°H a -0,555°H. As análises de contagem de células somáticas (CCS) foram determinadas por citometria de fluxo (Somacount 500), no laboratório da Associação Paranaense de Criadores da Raça Holandesa (APCBRH).

A avaliação do escore de condição corporal (ECC) das vacas foi realizada por dois avaliadores treinados, empregando-se a metodologia desenvolvida por Edmonson *et al.* (1989). Esta metodologia é baseada em avaliações visuais e táteis das reservas corporais em pontos específicos do corpo do animal, utilizando-se uma escala biológica de 1 (muito magra) a 5 (muito gorda), com subunidades de 0,25 pontos realizada quinzenalmente.

No que se refere a estatística, inicialmente as amostras foram avaliadas de forma descritiva, usando os procedimentos UNVARIANTE e FREQ do programa estatístico SAS[®]. Para serem calculados os valores da média, mediana, moda, amplitude, coeficiente de variação, avaliação de normalidade, LINA e estabilidade (teste Shapiro- Wilk). Para classificação da ocorrência de LINA, o leite foi considerado instável quando havia ocorrência de precipitação em solução de etanol menor que 76% v/v. Já a comparação dos valores de DEL, escore de células somáticas (ECS), acidez titulável e crioscopia do leite entre diferentes classes de estabilidade foi realizada usando análise de variância, procedimento GLM do SAS[®] e opção LSmeans para separação das médias. Os resultados da

análise de CCS foram transformados em log10 para a análise estatística. Os valores P foram considerados significativos quando menores que 0,05.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram as médias de DEL, CCS, acidez titulável e crioscopia do leite. Verifica-se que o rebanho apresentou DEL dentro do valor médio esperado, ou seja, abaixo de 180 dias (Ribas, 1997), indicando que o rebanho não apresenta problemas reprodutivos.

Tabela 1. Análise descritiva dias em leite, contagem de células somáticas, acidez e crioscopia

Variável	n	Média	Mediana	Moda	Amplitude	CV (%)
DEL (dias)	252	173,3	190,5	300	3 – 866	0,7
CCS (mil céls/mL)	244	82,3	72,5	17	3 – 1397	1,5
Acidez (°D)	252	15	16	15	11 – 23	0,2
CRIO (°H)	251	-0,543	-0,543	-0,54	-0,520 a -0,574	-0,02

DEL: dias em leite; CCS: contagem de células somáticas; CRIO: índice crioscópico; CV: coeficiente de variação.

Já no que se refere à CCS, nota-se que o rebanho apresenta boa sanidade da glândula mamária comparada com o que a Instrução Normativa preconiza. Mas pode-se notar em questão das variações dos animais em quantidade de células somáticas com a amplitude de 3 mil a 1.397.000 de células somáticas, observando que há vacas no rebanho que estão com a CCS muito

alta. Muitos fatores podem contribuir para esta alta, mas a principal é a presença de mastite, assim prejudicando na média de CCS do rebanho. Barbosa *et al* (2002) encontraram na pesquisa que mais de setenta e seis por cento das amostras com CCS alta estavam correlacionadas com a presença de mastite.

Segundo a IN, o leite deve apresentar acidez titulável entre 14 e 18° Dornic, para ser considerado leite normal. Com as médias obtidas verifica-se que as amostras apresentaram valores de acidez dentro dos padrões de normalidade, porém, variou de 11 a 23° D. As amostras que apresentaram 11°D são tipicamente alcalinas, podem ser causadas por o animal apresentar mastite, ou animais no final da lactação. Já as amostras com 23°D podem estar relacionadas com a ação das bactérias que utilizam lactose do leite e transformam em ácido láctico, assim deixando o meio ácido (ARAÚJO, A.P. et al 2013).

Sabe-se também que uma das causas de instabilidade do leite é a acidez. Neste sentido, as amostras de leite estão no padrão exigido pelas IN 76/77. No entanto, esta é a concentração mínima do álcool exigida pela legislação para a prova de estabilidade do leite. Maiores concentrações do álcool tornam o teste mais rigoroso quanto à precipitação do leite na presença de etanol. Sendo assim, as amostras de leite estáveis a 72% poderiam não apresentar estabilidade a 76%, sendo esta instabilidade causada provavelmente pela acidez (18,5° D). A principal identificação do leite instável é a estabilidade da caseína ao teste do etanol, no qual ocorre precipitação sem ocorrer elevação da acidez do leite (ZANELA, 2004).

Com relação aos resultados do ponto de congelamento do leite (índice crioscópico), de acordo com a IN, os valores devem estar entre -0,530°H e -0,555°H. De acordo com os resultados obtidos na pesquisa, observou-se que as amostras estão dentro dos parâmetros exigidos pela normativa 76/77 (MAPA). Muitos fatores que podem afetar o índice da crioscopia, como manejo errado do

bebedouro como somente deixar na sala de ordenha e não disponibilizando no pasto ou outro local em que o animal se encontra. Época do ano, interfere mais nos dias mais quentes do verão em que o animal procura por beber mais água. Estágio da lactação decorrente quando o animal está no pico de lactação e conseqüentemente sua maior produção e modo geral vai diluir os sólidos totais. A indústria avalia o índice crioscópico do leite para identificar fraudes com acréscimo de água para obter um maior volume. No entanto, a crioscopia pode auxiliar na identificação de leite instável, como exemplo em casos de mastite que tendem a aproximar o ponto de congelamento do leite ao da água, como citado por Moura *et al.* (2017).

A tabela 2 mostra as médias das variáveis, de acordo com a estabilidade do leite, o estágio de lactação das vacas se mostrou relevante no que se refere a estabilidade do leite.

Tabela 2. Valores médios das variáveis dias em leite (DEL), escore de células somáticas (ECS), acidez titulável e crioscopia (CRIO) de amostras de leite de vacas da raça Holandesa em função do nível de estabilidade (alta, intermediária e baixa)

Média	Estabilidade			P
	A	I	B	
DEL (dias)	186,3b	219,1ab	278,7a	=0,0035
ECS (célts/log10)	1,51a	1,73b	1,73b	=0,0090
Acidez (°D)	15,3	15,3	15,6	NS
CRIO (°H)	-0.543	-0.544	-0.545	NS

Letras diferentes na linha, diferem pelo teste de Tukey. A: Alta estabilidade, acima de 82% v/v; I: Estabilidade intermediária, entre 78 – 80% v/v; B: baixa estabilidade entre 72 – 76% v/v.

Animais com DEL mais avançado apresentaram baixa estabilidade do leite. Nas análises feitas o DEL elevado se mostrou relevante, onde vacas com DEL médio de 278,7 dias apresentaram maior instabilidade. Com relação aos

DEL, Silva *et al.* (2009) observaram em vacas da raça Jersey, maior instabilidade do leite no início da lactação. Isso ocorre com as vacas pós-parto devido à baixa estabilidade do colostro. Segundo estes autores, com o avanço da lactação, ocorre o aumento na estabilidade do leite o qual volta a reduzir nos últimos dias de lactação. O que pode ser feito para diminuir o DEL, é diminuir intervalo entre os partos. É utilizar tecnologias da reprodução, (IATF) inseminação artificial por tempo fixo. Em pesquisa feita por Fidelis *et al.* (2019), mostra que a utilização da IATF diminui intervalo entre os parto. Tendo em vacas leiteiras um parto em um intervalo de doze meses.

O que pode relacionar a baixa estabilidade do leite com DEL avançado é o teor da lactose encontrado (PAVIC *et al.*, 2002). A lactose também é responsável pelo equilíbrio osmótico na glândula mamária, e ao mesmo tempo pelo volume de leite produzido. Segundo os autores Fagnani *et al.* (2016), se o teor de lactose estiver baixo pode ocorrer um deslocamento de minerais do sangue diretamente para o leite, ocorrendo assim a queda no pH e aumento na concentração de cálcio iônico, favorecendo a precipitação da proteína devido sua desestabilização. O que se pode concluir dos resultados é que quanto maior o DEL dos animais maior a probabilidade da instabilidade do leite.

Para

Com relação à CCS, os animais que apresentaram valores mais elevados tiveram maior instabilidade do leite. Marques (2004) também verificou esta relação entre CCS e estabilidade, ou seja, amostras com CCS maior apresentaram maior instabilidade. A CCS alta indica a ocorrência de mastite subclínica. Oliveira *et al.* (2011) indicaram que quanto maior a CCS, maior a instabilidade, pois os microrganismos alteram a quantidade de enzimas, a principal proteases oriundas das células de defesa da vaca, que por sua vez hidrolisam parte da caseína, podendo deixá-la instável ao aquecimento. Em contrapartida, Zanela (2004) afirmou que não há relação da mastite com a instabilidade do leite, pois o leite apresenta uma instabilidade devido a acidez.

Esta falta de estabilidade é causada pelos microrganismos que provocam a degradação da lactose, produzindo assim ácido láctico. E como consequência o leite apresenta acidez.

A relação entre crioscopia e instabilidade refere-se à quantidade de sólidos totais do leite. Outro fator que os pesquisadores utilizam para correlacionar o índice de crioscopia em relação ao LINA é a estação do ano, onde a estação do ano que mais ocorre maior instabilidade do leite é no verão. Nessa época do ano, os animais ingerem maior volume de água, alterando o índice crioscópico, e o leite fica mais diluído, devido ao aumento de água no leite em consequência da maior ingestão de água pelo animal antes da ordenha citado por DE VARGAS et al, (2019).

No que se refere a acidez titulável, nota-se que estavam dentro dos padrões exigidos pela instrução normativa, comunicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que deve se encontrar entre 14°D a 18°D. Por isso, as amostras analisadas obtiveram o resultado normal conforme a IN 76/77 preconiza.

4- CONCLUSÕES

As amostras de leite testadas em sua maioria apresentaram estáveis aos testes realizados. Tendo em vista que as amostras com DEL avançado apresentaram menor estabilidade, conforme ocorreu com amostras com CCS mais elevada. O leite instável não ácido tem como característica a perda da estabilidade do leite, apresentando precipitação ao teste do etanol, sem que ocorra uma acidez elevada, acima de 18°D encontrado na pesquisa. A crioscopia atendeu os padrões esperados e preconizados pela instrução normativa 76/77, então não foram significativas em relação com leite que apresentaram precipitação ao teste do etanol.

5- REFERÊNCIAS

- ABREU, A. S.; *et al.* Estresse calórico induzido por privação de acesso à sombra em vacas holandesas reduz a produção leiteira e a estabilidade térmica do leite. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE LECHE INESTABLE, 2., 2011, Colonia del Sacramento. **Anais...** Colonia del Sacramento, 2011.
- ARAÚJO, A.P. *et al.* Qualidade do leite na bovinocultura leiteira. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 22, Ed. 245, Art. 1620, Novembro, 2013.
- BARBOSA, Cristiano Pereira *et al.* Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “California Mastitis Test”(CMT), no diagnóstico de mastite bovina. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 1, p. 93-102, 2002.
- BARBOSA, R. S.; *et al.* Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 47, n. 4, p. 621-628, abr. 2012.
- BATTAGLINI, Ana Paula Pavão *et al.* Caracterização físico-química e microbiológica do leite bovino instável não ácido em função das estações do ano. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 35, n. 1, p. 26-32, 2013.
- BRASIL, R.B.; *et al.* Leite instável não ácido e fatores que afetam a estabilidade do leite. **Ciência Animal**. V.25,n.4 p.15-26. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº76/77 de 30 de maio de 2018. **Diário Oficial** (da República Federativa do Brasil), Brasília, junho de 2018.
- COSTA, F.; BRITO, M.A.V.P., SOUZA, G.N; BRITO, J.R.F **Influência da temperatura no teste de estabilidade do leite frente ao etanol, In.:** O Compromisso com a Qualidade do Leite no Brasil. p. 296-300 Passo Fundo, 2004.
- DA SILVA, Livia Cavaletti Corrêa *et al.* Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino. **Revista do instituto de laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 384, p. 55-60, 2012.
- DE VARGAS, Rubiele Muller *et al.* PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE EM UMA UNIDADE DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA (UPA) NO MUNICÍPIO DE IJUÍ. **Salão do Conhecimento**, 2018.
- EDMONSON, A.J., LEAN, I.J., WEAVER, L.D. *et al.* 1989. A body condition scoring chart for **Holstein dairy cows**. J. Dairy Sci., 72(1):68-78

FAGNANI, R. *et al* . Estabilidade do leite ao álcool ainda pode ser um indicador confiável. **Ciênc. Anim. Bras.**, Goiânia 2016, v. 17, n. 3, p. 386-394.

FIDELIS, Cicero Antônio Sobreira; FERNANDES, Darllan Philippe Palitot. Emprego de IATF como alternativa para melhorar a eficiência reprodutiva de vacas leiteiras. **PUBVET**, v. 14, p. 128, 2019.

FONSECA, L, F, L. *et al*. **Qualidade do leite e controle de mastite**. 2001.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Pesquisa Trimestral do Leite**. Rio de Janeiro, RJ, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html?=&t=o-que-e>. Acesso em: 16 dez. 2021.

PAVIĆ, V. *et al*. Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk. **Czech journal of animal science**, v. 47, n. 2, p. 80-84, 2002.

OLIVEIRA, C. A. F *et al*. Composição e características físicoquímicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 508-515, 2011.

MARTELLO, L. S. Interação animal-ambiente: efeito do ambiente climático sobre as respostas fisiológicas e produtivas de vacas Holandesas em free-stall, 2006. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal)- Universidade de São Paulo. Pirassununga – SP.

MARQUES, L. T.; FISCHER, V.; ZANELA, M. B.; STUMPF JÚNIOR, W.; RIBEIRO, M. E. R.; VIDAL, L. E. B.; RODRIGUES, C. M.; PETERS, M. D. Suplementação de vacas holandesa em estádio avançado de lactação. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1392-1398, 2010a.

MOURA, E.O. *et al*. Electrical conductivity and somatic cell count in zebu cow's milk. **Semina: Ciências Agrárias**, v.38, n.5, p.3231-3240, 2017.

Rodrigues, R.; Fonseca, L. M.; SOUZA, M. R. Acidez do leite. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG**, n. 13, p.63-72, 1995.

Ribas, JB (1997). Programa de alimentação e desenho de arraçoamentos em vacas leiteiras. *Revista Portuguesa de Buiatria*, Vol. 1, 2: 21-34.

SANTOS, José Henrique Amaro. *et al* FATORES QUE INFLUENCIAM NA CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS TOTAIS NO LEITE DE FÊMEAS BOVINAS. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v. 3, n. 1, p. 81-88, 2020.

SILVA, H. A. *et al*. Análise da viabilidade econômica da produção de leite a pasto e com suplementos na região dos Campos Gerais – Paraná. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 445-450, 2008.

SIMEPAR Sistema Meteorológico do Paraná, Paraná, 2020 Disponível em: <http://www.simepar.br/> Acesso em 20/03/2020.

SUÑÉ, R. W. A incidência de amostras de leite com reação positiva ao teste do álcool em diferentes concentrações na região da Campanha do Rio Grande do Sul e a relação com a acidez titulável no acidímetro de Dornic. **Embrapa Pecuária Sul-Documentos (INFOTECA-E)**, 2010.

VENTURINI, Katiani Silva; SARCINELLI, Maryelle Freire; SILVA, LC da. Características do leite. **Boletim Técnico, Universidade Federal do Espírito Santo, Pró-Reitoria de Extensão, Programa Institucional de Extensão, PIE-UFES**, v. 1007, n. 6, 2007.

TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite**. Editora UF ed. v. 4, n. , p. , 2010.

ZANELA, M. B. *et al.* Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 153-159. 2004.

ZANELA, M. B *et al*, V. Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool In: **Leche inestable**. Desafios en el Cono Sur.1 ed. Montevideo - Uruguay: Universidad de la República, 2014, v. 1, p. 9-16.

ZANELA, M. B. *et al.* Leite Instável Não Ácido (Lina)-Variações na Composição do Leite. **Embrapa Clima Temperado-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2015.

