

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

BÁRBARA HAMILKO BALZER

CARACTERÍSTICAS DO LEITE DE VACAS DA RAÇA JERSEY E HOLANDESA E SEUS
EFEITOS SOBRE A ESTABILIDADE DO LEITE

PONTA GROSSA
2021

BÁRBARA HAMILKO BALZER

CARACTERÍSTICAS DO LEITE DE VACAS DA RAÇA JERSEY E HOLANDESA E SEUS
EFEITOS SOBRE A ESTABILIDADE DO LEITE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para a
obtenção do título de Bacharelado em Zootecnia na
Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de
Ciências Agrárias e Tecnologia.

Orientador (a): Prof^ª Dr^ª Adriana de Souza Martins
Coorientador (a): Thais Fatima Ferreira Neves

PONTA GROSSA

2021

BÁRBARA HAMILKO BALZER

CARACTERÍSTICAS DO LEITE DE VACAS DA RAÇA JERSEY E HOLANDESA E SEUS
EFEITOS SOBRE A ESTABILIDADE DO LEITE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do título de Bacharelado em
Zootecnia na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Ciências Agrárias e Tecnologia.

Ponta Grossa, 16 de Dezembro de 2021

Profª Drª Adriana de Souza Martins – Orientadora
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profº Drº Guilherme de Almeida Souza Tedrus
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Mª. Thais Fatima Ferreira Neves
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Dedico aos meus pais, Aldrin e Darucha e à minha irmã Andressa.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida e por não deixar eu desistir dos meus sonhos, me dando forças para enfrentar e superar todos os obstáculos.

Aos meus pais Aldrin e Darucha e à minha irmã Andressa, por serem meu porto seguro e por me apoiarem para nunca desistir.

Ao meu namorado e melhor amigo André, por todo amor, carinho e incentivo que foram essenciais nessa reta final.

À Prof^a. Dr^a. Adriana de Souza Martins, por toda sabedoria compartilhada, auxílio e dedicação na orientação para a elaboração do meu TCC.

À Thais Fatima Ferreira Neves, por todas as contribuições e conhecimentos compartilhados para o melhor desempenho do trabalho.

À toda equipe do projeto de pesquisa, pela parceria, pela hora do suco nos intervalos das análises e por toda colaboração resultando em um excelente desempenho e de forma leve e divertida.

À minha amiga da vida, Amanda, por todas as conversas, choros, risadas e parceria que fizeram todos esses anos de graduação serem os melhores.

À minhas amigas Ticia e Gil, por toda parceria, ajuda e risadas, muitas risadas, ao longo do curso.

E por último, à todas as pessoas que participaram e de alguma forma contribuíram para a minha jornada.

“Educação não transforma o mundo.

Educação muda as pessoas.

Pessoas mudam o mundo”

(Paulo Freire)

RESUMO

Entre os fatores que interferem na qualidade do leite está a estabilidade. Leite de baixa estabilidade coagula sob processamentos térmicos realizados na indústria. O objetivo do trabalho foi analisar a estabilidade do leite ao etanol de vacas das raças Jersey e Holandesa, em relação a composição do leite e a concentração de cálcio iônico. Para isso foram utilizadas 213 amostras de leite de vacas da raça Jersey e 252 amostras da raça Holandesa coletadas em duas propriedades localizadas no município de Carambeí – PR. As análises realizadas foram: teste do etanol, acidez titulável e cálcio iônico. Para determinar a composição química do leite, foram utilizados os resultados de amostras coletadas no controle leiteiro. Os valores de P foram considerados significativos a $< 0,05$. Observou-se diferença nos teores de gordura em relação ao nível de estabilidade nas amostras de leite de vacas da raça Jersey. Houve redução significativa nos teores de lactose nas amostras de leite com estabilidade baixa das vacas da raça Holandesa. Observou-se diferença no escore de células somáticas nas amostras da raça Holandesa, sendo os valores encontrados de $1,51$ células/ \log^{10} para amostras de alta estabilidade e $1,73$ células/ \log^{10} de estabilidade intermediária e baixa. O cálcio iônico foi o componente que mais interferiu na estabilidade do leite de ambas as raças. Para a raça Jersey, a gordura foi o nutriente que mais variou em função da estabilidade do leite. A contagem de células somáticas (CCS) causou maior influência nos animais da raça Holandesa.

Palavras-chave: Acidez, Cálcio Iônico, Gordura, Proteína.

ABSTRACT

Among the factors that influence the quality of milk is its stability. Low stability milk coagulates under thermal processing carried out in the industry. The objective of this study was to analyze the ethanol stability of milk from Jersey and Holstein cows, regarding milk composition and ionic calcium concentration. For this, 213 samples of milk from Jersey cows and 252 samples of the Holsteins collected from two properties located in Carambeí, PR, were used. The analyses performed were: ethanol test, titratable acidity and ionic calcium. To determine the chemical composition of the milk, the results of samples collected during the milk control were used. P values were considered significant at < 0.05 . A difference was observed in fat contents in relation to the stability level in milk samples from Jersey cows. There was a significant reduction in lactose contents in milk samples with low stability from Holstein cows. A difference was observed in the somatic cell score in the samples of the Holsteins breed, with values of 1.51 cells/log10 for samples with high stability and 1.73 cells/log10 for intermediate and low stability. Ionic calcium was the component that most interfered in the stability of the milk of both breeds. For the Jersey breed, fat was the nutrient that varied the most as a function of milk stability. The somatic cell count (SCC) had more influence in the Holsteins.

Keywords: Acidity, Ionic Calcium, Fat, Protein.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Interpretação de resultados de valores em Graus Dornic em relação a acidez do leite..	17
Tabela 2. Escore linear e a contagem de células somáticas.....	19
Tabela 3. Valores médios das variáveis produção de leite (PL), gordura; proteína; lactose, escore de células somáticas (ECS) e cálcio iônico (CAi) de amostras de leite de vacas da raça Holandesa em função do nível de estabilidade (alta, intermediária e baixa).....	20
Tabela 4. Valores médios das variáveis produção de leite (PL), gordura, proteína, lactose, escore de células somáticas (ECS) e cálcio iônico (CAi) de amostras de leite de vacas da raça Jersey em função do nível de estabilidade (alta, intermediária e baixa).....	23

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Estabilidade Alta
APCBRH	Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa
B	Estabilidade Baixa
Ca ²⁺	Cálcio Iônico
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
Cl	Cloro
CMETL	Centro Mesorregional de Excelência em Tecnologia do Leite
CPP	Contagem Padrão em Placas
DEL	Dias em Leite
ECS	Escore de Células Somáticas
I	Estabilidade Intermediária
IN	Instrução Normativa
ISA	Ionic Strenght Adjuster
K	Potássio
K-CN	k-Caseína
LINA	Leite Instável Não Ácido
Mg	Magnésio
P	Fósforo
pH	Potencial Hidrogeniônico
PL	Produção de Leite
ppm	Partes por milhão
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UHT	Ultra High Temperature
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Composição do leite.....	12
1.2 Fatores que afetam a estabilidade do leite	14
2. MATERIAL E MÉTODOS	16
2.1 Análises Laboratoriais.....	17
2.2 Avaliação do escore de células somáticas.....	18
2.3 Análise estatística	19
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4. CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS	24

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial de leite com cerca de 33,6 bilhões de litros produzidos por ano. Já o estado do Paraná é considerado o segundo maior produtor de leite do Brasil, com 4,3 bilhões de litros de leite produzidos, ficando atrás apenas do estado de Minas Gerais. (EMBRAPA, 2020).

A cadeia produtiva do leite encontra-se cada vez mais exigente em relação a qualidade da matéria-prima, visando maior rendimento, sem comprometer os processos da industrialização (BRASIL *et al.* 2015). Sendo assim, para uma produção de derivados com qualidade e segurança, o setor produtivo e as indústrias de processamento são exigentes quanto às propriedades físico-químicas do leite. Essas características são de extrema importância, principalmente para destiná-los ao tratamento térmico mais apropriado, evitando possíveis problemas na produção de derivados lácteos (SILVA *et al.* 2012).

Devido a importância da qualidade dos produtos lácteos, normativas foram criadas para que o leite produzido atenda aos padrões exigidos. A Instrução Normativa (IN) nº 76 (Brasil, 2018), estabelece requisitos mínimos para o leite cru refrigerado em conjunto, sendo que para o teor de gordura é aceitável, no mínimo, 3,0g/100g, para o teor de proteína total, mínimo de 2,9g/100g e de 4,3g/100g para o teor mínimo de lactose. Em relação aos parâmetros físico-químicos, ainda segundo a IN 76, a acidez titulável deve apresentar valores entre 0,14 e 0,18g ácido láctico/100mL, estabilidade ao alizarol na concentração mínima de 72% v/v, a contagem padrão em placas (CPP) deve apresentar médias trimestrais de, no máximo, 300.000 unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) e de contagem de células somáticas (CCS) de, no máximo, 500.000 células somáticas por mililitro (CS/mL).

1.1 Composição do leite

O leite é composto pela união de glóbulos de gordura e micelas de caseína, contendo também lactose e minerais (GONZÁLEZ, 2001). Além disso, apresenta diversas funções biológicas e permite a realização de processamentos pela indústria, para a fabricação de derivados lácteos, destinados a alimentação da população (FONSECA E SANTOS, 2000).

O leite é constituído por, aproximadamente, 88% de água, 3 a 4 g/100g de proteínas, 3,5 a 5,3 g/100g de gordura, 4,7 a 5,2 g/100g de lactose, sais minerais como cálcio (Ca), cloro (Cl), fósforo (P), potássio (K), zinco (Zn), magnésio (Mg) e vitaminas, como as do complexo B e vitamina A. Estes componentes podem sofrer variação de acordo com a nutrição, manejo, raça e genética, sendo a gordura e a proteína os componentes que mais sofrem variação (LOPES, 2008).

A gordura presente no leite é composta principalmente por triglicerídeos, e este é o

responsável pela maioria das características sensoriais, além de ser o principal componente energético do leite (FONSECA E SANTOS, 2000). Esse constituinte sofre variação em função da nutrição do animal e também por conta de fatores ambientais (BAUMAN *et al.* 2006). Fornecer uma dieta com altos níveis de concentrado e escassa em fibra fisicamente efetiva, interfere negativamente no teor de gordura do leite (FONSECA E SANTOS, 2000). Na raça Holandesa, a média do teor de gordura no leite encontra-se com valores aproximados à 3,5%, e na raça Jersey, o teor de proteína pode chegar a 5,5% (JENSEN, 1995).

Em relação as proteínas do leite, as principais são as caseínas, classificadas como as proteínas verdadeiras e as proteínas do soro. Sua concentração varia de acordo com a nutrição, raça e genética no animal. A caseína é uma proteína globular insolúvel em água, pois apresenta uma porção hidrofóbica no seu interior e hidrofílica apenas na sua superfície (WALSTRA, 1999). É formada por um conjunto de sub-micelas que se diferenciam pela composição de aminoácidos. A principal sub-micela responsável pela estabilidade proteica do leite é a k-caseína (k-CN), em função do seu tamanho pequeno, da sua força eletrostática negativa e de sua difícil solubilização (MACHADO, 2010).

A lactose, é um dissacarídeo composto por moléculas de glicose e galactose, sendo considerada a principal molécula relacionada com a manutenção do equilíbrio osmótico do leite, visto que para manter o equilíbrio, ela faz com que a água do sangue seja transferida para o leite (PELIZZA, 2015). O nível de lactose no leite pode ser alterado pela presença elevada de células somáticas (CS), uma vez que a mastite aumenta a permeabilidade da glândula mamária e ocasiona maior entrada de sódio, modificando o equilíbrio osmótico do leite e conseqüentemente, reduzindo o teor de lactose (MARÉCHAL *et al.* 2011).

A composição do leite tem importante significado para a indústria. Pequenas variações podem acarretar prejuízos econômicos, como por exemplo, a diminuição de 0,5% nos sólidos totais significa uma diferença de 5 toneladas de leite em pó por milhão de litros processados (PONCE, 2004). Com isso, a indústria tem sido cada vez mais exigente, definindo descontos ou bonificações no preço pago por litro de leite. Por este motivo, a preocupação do produtor passa a ser também com a qualidade da matéria prima e não somente com o volume de leite produzido.

Na indústria são realizados diversos testes no leite afim de evitar possíveis adulterações e também as características físico-químicas que podem interferir nos processos de industrialização. A fabricação de leite Ultra High Temperature (UHT) e leite em pó é realizada em larga escala e o processamento térmico realizado nesses produtos é extremamente rigoroso, visto isso um dos principais testes realizados é o do etanol (SILVA *et al.* 2012).

A prova do álcool ou teste do etanol é feito antes do carregamento do leite para a indústria. Este teste avalia a estabilidade do leite em suportar o tratamento térmico realizado na indústria sem sofrer coagulação (precipitação). O leite que não passa neste teste, ou seja, apresenta coagulação, é considerado instável, e pode ser descartado pela indústria ou subvalorizado (ZANELA *et al.* 2017). O leite instável pode comprometer a qualidade dos derivados e apresentar características indesejáveis em alguns casos, como o menor teor de sólidos no leite, menor rendimento na fabricação de queijos, precipitação nos processos térmicos, entre outros. Já o leite estável é mais resistente a esses processos, como a pasteurização e a produção de leite UHT (FISCHER *et al.* 2012).

No entanto, em muitos casos a instabilidade pode ser confundida com o leite ácido, pois resultados positivos no teste do etanol, ou seja, quando o leite apresenta precipitações, podem ocorrer devido a redução do potencial hidrogeniônico (pH) por conta de uma elevada contaminação bacteriana, pela fermentação da lactose e pela produção de ácido lático (ZANELA *et al.* 2006).

1.2 Fatores que afetam a estabilidade do leite

Vários são os fatores que estão relacionados com a perda de estabilidade, dentre eles estão a composição do leite, a nutrição das vacas, o período do ano, o estágio de lactação e fatores de estresse dos animais. Os minerais, Ca, Cl, P e Mg que estão presentes no leite podem estar integrados as micelas de proteína, interligados ou isolados (NEGRI, 2001). Estes minerais estão distribuídos em duas fases, solúvel ou livre, ou em fase coloidal, em que está ligado à micela de caseína (ÓRDONÓEZ *et al.* 2005). A mobilidade dos sais no leite depende das condições de pH, temperatura e concentração salina, que podem influenciar diretamente na estabilidade do leite, principalmente pelo aumento de cálcio na fase solúvel (SILVA, 2004).

O cálcio iônico (Ca^{2+}) é um dos principais fatores que interfere na ocorrência de instabilidade do leite. Ele reduz, de forma significativa, a capacidade da caseína manter sua estrutura física (BANSAL & CHEN, 2005). É necessário que haja um equilíbrio mineral no leite, caso contrário, haverá uma compensação, onde o nível de Ca^{2+} poderá se elevar e, conseqüentemente, afetará a estabilidade do leite (LIN *et al.* 2006). As micelas de caseína são unidas por ligações de fosfato de cálcio e essas alterações no equilíbrio, principalmente entre o cálcio solúvel (iônico) e coloidal (ligado a proteínas) geram resultados positivos ao teste do etanol (CONTI E SANTOS, 2009).

O aumento do cálcio iônico no leite também pode estar relacionado com a fase da lactação das vacas e com o tempo entre a coleta da amostra e a análise, visto que quando esse tempo excede oito horas, o nível de cálcio iônico no leite pode se elevar (BARBOSA *et al.* 2009).

A partir de sua composição química e pela formação natural de ácidos, o leite possui um teor de acidez. Para ser considerado dentro dos parâmetros de normalidade e qualidade, o leite deve apresentar uma acidez titulável entre 14 e 18°D segundo a IN nº 76 (BRASIL, 2018).

Inúmeros fatores podem influenciar na acidez do leite, desde o tempo de lactação até inflamações e infecções na glândula mamária (TRONCO, 2010). O pH normal do leite permanece entre 6,6 a 6,8. Quando o pH é ácido (menor que 6,5), a força iônica que mantém a estrutura das micelas, é reduzida, afetando assim a estabilidade do leite (ROSE, 1963). Do mesmo modo, quando o pH está acima de 6,9, básico, a estabilidade também é reduzida, pois há uma dissociação das soro proteínas do leite e da k-CN (O'CONNELL E FOX, 2001).

No entanto, segundo Fonseca e Santos (2007) o leite pode estar instável e ocorrer precipitação de proteína no teste do álcool, sem haver acidez acima de 18°D de leite, denominando-se assim leite instável não ácido (LINA).

Outro fator que pode afetar a estabilidade do leite é a contagem de células somáticas (CCS). As células somáticas são todas as células do organismo, exceto as células germinativas, formadas por células de defesa que são transferidas do sangue para a glândula mamária para combaterem agentes agressores. Um animal saudável apresenta CCS inferior a 200.000 CS/mL, valores encontrados maiores que esse é indicativo de mastite no rebanho (EMANUELSON E FUNKE, 1991).

O aumento da CCS determina menor síntese dos componentes do leite, visto que altera a concentração de gordura e proteína, permitindo maior passagem de sais do sangue para o leite (BARROS *et al.* 1999). A mastite causa alterações na permeabilidade vascular das células secretoras de leite e isso afeta o equilíbrio de sais, como o Na, Cl, Ca, P e K (CONTI E SANTOS, 2009).

Além da CCS, outro fator que influencia a qualidade do leite é a contagem bacteriana total (CBT). Quando temos um leite com elevado nível de CBT, o teor de proteína aumenta e os níveis de lactose se reduzem. Esse aumento de proteína deve-se ao fato de proteínas sanguíneas passarem para o leite e não devido ao aumento de caseínas (FONSECA E SANTOS, 2000). O aumento da CBT também pode estar relacionado a quadros de mastite, no entanto, os maiores causadores desse problema são as falhas nos processos de higienização de utensílios utilizados na ordenha, higienização do tanque e de refrigeração do leite (MACHADO, 2010).

O leite instável acomete rebanhos leiteiros alterando suas propriedades físico-químicas, acarretando prejuízos na cadeia produtiva do leite, tanto aos produtores quanto a indústria. Dependendo das exigências de mercado, o leite não será transportado ou haverá descontos no preço

pago por litro. A incidência de leite instável vem aumentando consideravelmente nas propriedades leiteiras da região, em vista disso, é importante conhecer as reais causas da instabilidade para prevenir sua ocorrência nos rebanhos.

O objetivo do experimento foi analisar a estabilidade do leite de vacas das raças Jersey e Holandesa sob diferentes concentrações do álcool, e sua relação com a composição, CCS e concentração de cálcio iônico no leite.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em duas propriedades leiteiras localizadas no município de Carambeí – PR, com rebanhos das raças Jersey e Holandesa.

A propriedade com vacas da raça Jersey foi composta por 525 animais, mantidos confinados em sistema *Compost Barn*, com sistema de ventilação. As vacas em lactação foram divididas em dois lotes (alta produção, acima de 28L/vaca/dia e baixa produção, abaixo de 18L/vaca/dia). A ordenha foi realizada duas vezes ao dia, às 04:00h e 14:30h.

A dieta foi composta por silagem de milho, pré-secado de azevém e concentrado para o lote de baixa produção, e para o lote de alta produção foi acrescentado o caroço de algodão e o grão de milho úmido. A alimentação foi fornecida à vontade em comedouros coletivos. O acesso a água foi à vontade. Nessa propriedade foram realizadas três coletas, totalizando 213 amostras de leite, provindas de 71 vacas em lactação de 1ª a 5ª ordem de parto, com média de 150 dias em leite (DEL).

Já a propriedade de vacas da raça Holandesas, foi composta por 189 animais, mantidos em sistema *Tie Stall*, alojados em dois barracões, com sistema de ventilação forçada (ventiladores e exaustores). As vacas foram ordenhadas três vezes ao dia, às 05:00h, 14:00h e às 22:00h. A composição da dieta dos animais foi confeccionada com base na produção média das vacas de 40L/vaca/dia, e composta por silagem de milho e de cevada, pré secado de azevém, concentrado, resíduo de cervejaria, caroço de algodão e palha de trigo, sendo fornecida logo após cada ordenha. A água foi fornecida à vontade em bebedouros. Nessa propriedade foram realizadas coletas quinzenalmente, totalizando 252 amostras de leite de 63 vacas em lactação de 1ª a 7ª ordem de parto, e com DEL médio de 150.

As amostras de leite foram coletadas com o auxílio de coletores automáticos, acoplados ao sistema de ordenha de cada propriedade. As amostras foram armazenadas em frascos de 200 mL, identificados e acondicionadas em caixas térmicas com gelo. Após a coleta, as amostras foram enviadas para o laboratório do Centro Mesorregional de Excelência em Qualidade de leite (CMETL), pertencente a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), onde as amostras foram

mantidas sob refrigeração a 4° C, destampadas para volatilização do gás carbônico. No dia seguinte, as amostras foram submetidas, as análises de acidez titulável, prova do etanol e a concentração de cálcio iônico.

2.1 Análises Laboratoriais

O teste do etanol foi realizado nas concentrações de: 72; 76; 78; 80%, de acordo com a metodologia descrita por Tronco (2010). A análise consistiu em pipetar em partes iguais 2 mL de leite e 2 mL de álcool, utilizando a pipeta automática, em placas de petri, e em seguida foi imediatamente homogeneizada e analisada visualmente a presença ou não de coágulos (grumos). Após a avaliação visual, a classificação das amostras foi dada em estabilidade alta (A), para amostras com estabilidade acima de 80% v/v, estabilidade intermediária (I), para amostras com estabilidade entre 78 – 80% v/v e estabilidade baixa (B), para amostras com estabilidade entre 72 – 76% v/v.

A acidez titulável ou acidez Dornic (°D), foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Tronco (2010). Para essa análise foram pipetados 10 mL de leite, utilizando a pipeta volumétrica, em um Erlenmeyer e adicionado de 3 a 5 gotas do indicador Fenolftaleína (1%). Com o auxílio de uma bureta e um titulador com solução de hidróxido de sódio a 1% (NaOH) titulou-se até que a mesma atingisse a coloração ligeiramente rósea (ponto de viragem). A análise de acidez do leite do rebanho da raça Holandesa foi realizada em duplicata e a análise do leite da raça Jersey ocorreu sem repetição devido ao menor volume de leite coletado pelo coletor automático acoplado a ordenha, que não foi suficiente para a realização das análises em duplicata. Após a observação do ponto de viragem, a quantidade de solução usada na titulação em mL era verificada, e a acidez determinada em graus Dornic.

$$\text{Acidez Dornic} = \text{valor obtido da titulação} * \text{fator de correção da solução de NaOH} * 10.$$

Os resultados foram classificados de acordo com a tabela 1 a seguir.

Tabela 1. Interpretação de resultados de valores em Graus Dornic em relação a acidez do leite

Graus Dornic (°D)	Acidez / pH
14-18°	Normal (pH 6,6 – 6,8)
>18°	Leite ácido (pH < 6,2)
<14°	Leite alcalino (pH >7,0)

A determinação do Ca²⁺ foi realizada segundo metodologia descrita por Barros, *et al.*, (1999), através de potenciometria. Foi utilizado um potenciômetro da marca Orion®, com eletrodo combinado de referência e seletivo para íons cálcio. Antes da realização das análises

o eletrodo foi mergulhado em solução padrão de cálcio de 1.000 ppm, para sensibilização, por um período de no mínimo 12h. No dia seguinte, antes da realização das análises o equipamento foi calibrado com as soluções padronizadas de solução padrão de cálcio 500 ppm e solução padrão de cálcio 50 ppm. Para as análises na raça Holandesa foram utilizados 50 mL de leite, e adicionados 1 mL da solução de ajuste iônico de cloreto de potássio (ISA-ionic strenght adjuster). Na raça Jersey, foram utilizados 25 mL de leite e 0,5 mL da solução ISA, devido à menor quantidade de leite coletado durante a ordenha. A leitura da concentração de Ca^{2+} era feita em mg/L.

As análises de composição do leite, foram realizadas a partir das amostras mensais coletadas no controle leiteiro oficial realizado em ambas as propriedades. As amostras foram analisadas na Associação Paranaense de Criadores da Raça Holandesa (APCBRH). Os teores de proteína, gordura e sólidos totais, foram analisados e determinados por espectrofotômetro de infravermelho (B 2300 Combi, Bentley), e a contagem de células somáticas (CCS) por Citometra de Fluxo (Somacount 500).

2.2 Avaliação do escore de células somáticas

Os valores de CCS foram transformados em escore linear de células somáticas (ECS) de acordo com a metodologia de Dabdoub; Shook (1984). A CCS foi transformada em escore linear através de uma escala logarítmica de acordo com a função:

$$EL = [Log_2 (CCS/100.000)] + 3$$

Os valores de CCS foram transformados em uma escala de 0 a 9 (Tabela 2).

Tabela 2 - Escore linear e a contagem de células somáticas

Escore linear	CCS (x 1000 céls/mL)	
	Ponto Médio	Variação
0	12,5	0 – 17
1	25	18 – 34
2	50	35 – 70
3	100	71 – 140
4	200	141 – 282
5	400	283 – 565
6	800	566 – 1.130
7	1.600	1.131 – 2.262
8	3.200	2.263 – 4.525
9	6.400	Acima de 4.525

Fonte: (SHOOK, 1982)

2.3 Análise estatística

Os dados foram definidos por raça e as análises estatísticas foram realizadas dentro de cada raça. Os resultados foram avaliados primeiramente de forma descritiva, usando os procedimentos UNIVARIATE e FREQ do programa estatístico SAS[®], para o cálculo dos valores de média, mediana, moda, amplitude e coeficiente de variação e avaliação da normalidade (teste Shapiro-Wilk).

Os valores de composição do leite e características reprodutivas de vacas produzindo leite com diferentes classes de estabilidade foram avaliados 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 a <0,05.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 3 mostram as características físico-químicas do leite das vacas da raça Holandesa. O teor de sólidos das amostras está de acordo com a legislação, que segundo a IN n° 76, o leite cru refrigerado em conjunto deve apresentar no mínimo 11,4g/100g de sólidos totais (BRASIL, 2018).

Tabela 3. Valores médios das variáveis produção de leite (PL), gordura; proteína; lactose, escore de células somáticas (ECS) e cálcio iônico (CAi) 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	
PL (litros/vaca/dia)	40,1	39,8	35,7	NS
Gordura (g/100g)	3,53	3,83	3,74	NS
Proteína (g/100g)	3,36	3,35	3,48	NS
Lactose (g/100g)	4,76 ^a	4,71 ^a	4,49 ^b	<0,001
ECS (cél/s/log10)	1,51 ^a	1,73 ^b	1,73 ^b	=0,0090
CA _i (mg/L)	80,8 ^a	91,6 ^b	104,0 ^c	<0,001

*Letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

A: Alta estabilidade, acima de 82% v/v; I: Estabilidade intermediária, entre 78 – 80% v/v; B: baixa estabilidade entre 72 – 76% v/v.

Fonte: NEVES – Dissertação de Mestrado (2020)

Os animais apresentaram alta produção leiteira, visto que a média diária brasileira de produção da raça Holandesa é de 8,68 kg/vaca/dia (EMBRAPA, 2021). A produção de leite não apresentou diferença estatística significativa, no entanto, o volume de leite foi numericamente menor nas amostras de baixa estabilidade. Resultados semelhantes foram encontrados por Zanela *et al.* (2009) e Marques (2004). A restrição alimentar ou mudanças na dieta são fatores que reduzem a produção leiteira e podem influenciar na baixa estabilidade (ZANELA *et al.*, 2006)

Os teores de gordura e proteína, não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) nos três diferentes níveis de estabilidade (alta, intermediária e baixa). Resultados contrários ao presente estudo foram encontrados por Marques *et al.* (2007), que verificaram um aumento no teor de gordura em amostras de leite que se apresentaram instáveis no teste do etanol. No entanto, o teor de gordura é o que mais sofre variação por fatores nutricionais e pelo volume de produção, visto que ele diminui com o aumento do volume de leite produzido. Zanela *et al.* (2006), não observaram diferença significativa na variação de gordura em amostras instáveis.

Em relação ao teor de proteína, Oliveira e Timm (2006) também não observaram diferença significativa nas amostras de leite com baixa estabilidade. Já Barros *et al.* (1999) verificaram resultados com valores significativamente maiores de proteína (3,49%) no leite instável, ou seja, que testaram positivo na prova do etanol com concentração de 70% e 3,23% nas amostras de leite estável, que testaram negativo. O teor de proteína pode variar de acordo com a fase da lactação e também pela dieta, sendo que sua diminuição pode estar associada à redução da caseína do leite, devido à menor disponibilidade de nutrientes da dieta (PONCE

CEBALLO E HERNANDEZ, 2001). No estudo as amostras foram coletadas em uma mesma fase de lactação e não houve alterações na dieta, o que pode ter contribuído com a constância dos teores de proteína.

Os teores de lactose foram semelhantes ($P > 0,05$) entre as amostras que apresentaram estabilidade alta e intermediárias (4,76 e 4,71g/100g, respectivamente). Todavia, observou-se redução significativa no teor de lactose das amostras classificadas como de estabilidade baixa (4,49 g/100g). Resultados semelhantes foram encontrados por Lopes (2008) onde a concentração média de lactose foi significativamente superior no leite estável (4,54g/100g) quando comparada ao leite instável (4,38g/100g). No entanto, Barros (2001), verificou que os teores de lactose de amostras instáveis ao álcool 70% v/v, foram maiores (4,84g/100g) que os de amostras estáveis (4,65g/100g).

O teor de lactose do leite pode ser reduzido por quadros de mastite (PHILPOT E NIKERSON, 2002), fato que pode ter ocorrido nesse experimento, pois observa-se aumento significativo no Escore de Células Somáticas (ECS) nas amostras de baixa estabilidade. No entanto, a ECS não foi considerada alta. A mastite aumenta a transferência de cloreto de sódio do sangue para o leite, promovendo desequilíbrio dos sais presentes no leite, influenciando na sua estabilidade (MARÉCHAL *et al.* 2011). No entanto, nas amostras de estabilidade intermediária, também apresentaram aumento no ECS, porém não houve interferência no teor de lactose.

Foram observadas diferenças estatísticas para as análises de cálcio iônico ($P < 0,05$) nos três níveis de estabilidade do leite (A, I, B), observando aumento nos níveis de cálcio iônico com o aumento da instabilidade. Resultados semelhantes foram encontrados por outros pesquisadores, como Barros *et al.* (2001) e Lin *et al.*, (2006), que constataram que amostras instáveis ao etanol 75% v/v apresentaram valores de cálcio iônico mais elevado do que amostras estáveis.

A falta de equilíbrio mineral no leite acarreta elevação do nível de Ca^{2+} como forma de compensação. Isso afeta a estabilidade do leite, pois o Ca^{2+} reduz a capacidade da caseína de manter sua estrutura física (BANSAL E CHEN, 2005; LIN *et al.* 2006). Além disso, a prova do etanol provoca uma diminuição na solubilidade do Ca^{2+} e isso faz com que exista uma proporção inversa entre a estabilidade das caseínas e a concentração de cálcio iônico (BARROS, 2001).

O cálcio está dividido no leite em duas fases, coloidal, ligado às micelas de caseína na forma de fosfato; e solúvel, distribuído entre ligações com citratos e fosfatos ou na forma de íons livres. A redução do pH do leite provoca um deslocamento do cálcio da fase coloidal para a fase solúvel, o que ocasiona aumento de cálcio iônico (COSTA, 2016). Vários outros fatores podem elevar os níveis de Ca^{2+} no leite. Segundo Barbosa *et al.* (2006), a temperatura ambiente, o fornecimento de

dietas aniônicas e o tempo entre a coleta da amostra de leite e a análise de cálcio iônico, visto que se esse tempo exceder oito horas, os níveis de cálcio iônico do leite podem aumentar. O período de lactação também pode causar interferências, visto que vacas no início e final da lactação apresentam maiores níveis de cálcio iônico (BARROS *et al.*, 2001). Durante a lactação o metabolismo do cálcio pode ser alterado pela ocorrência de acidose metabólica. Os níveis de cálcio no sangue e no leite são modificados por mecanismos que afetam a absorção intestinal, a reabsorção óssea e a excreção renal, como ocorre no período de pré-parto com o fornecimento de dieta aniônica (SANTOS *et al.* 2012).

Os resultados de ECS apresentaram uma pequena diferença significativa nas amostras de leite de média e baixa estabilidade, comparado as amostras de alta estabilidade. Essa diferença pode ter ocorrido devido a casos de mastite no rebanho. Holt (2004) constatou que o leite mastítico e de fim de lactação é mais instável do que leite de início ou meio de lactação, devido ao aumento de células de defesa que ocasionam desequilíbrio osmótico. A mastite afeta a estabilidade do leite, alterado a permeabilidade vascular das suas células secretoras, o que interfere no equilíbrio de sais, além de aumentar a atividade enzimática que contribui para o aumento da lipólise e da proteólise (BRASIL, 2015).

Na tabela 4 encontram-se os resultados obtidos das análises do leite de vacas da raça Jersey, em função do nível de estabilidade (A, I e B). As amostras de leite apresentaram diferença ($P < 0,05$) nos teores de gordura em relação ao nível de estabilidade. A raça Jersey apresenta alta produção de sólidos totais, principalmente em relação ao teor de gordura que pode chegar até 5g/100g (GONSALES, 2021). Como observado nos estudos realizados por Barros *et al.* (2001) e Marques *et al.* (2007), também houve aumento no teor de gordura nas amostras que apresentaram baixa estabilidade. No entanto Zanela *et al.* (2006) não observaram diferença estatisticamente significativa nos teores de gordura de amostras instáveis ao etanol 76% v/v.

A variação no teor de gordura pode ocorrer por diversos fatores, como a nutrição do animal e também por interferências relacionadas ao ambiente (BAUMAN *et al.* 2006). Dietas com altos níveis de concentrado e baixos níveis de fibra efetiva, reduzem o teor de gordura do leite (FONSECA E SANTOS, 2007). As alterações observadas na composição do leite de estabilidade baixa, no presente trabalho, sugerem que os animais que produziram o leite dessas amostras consumiram alimentação rica em volumosos. Além disso, a genética da raça Jersey permite que ela produza leite com maiores teores de sólidos, principalmente gordura (GONSALES, 2021).

Tabela 4. Valores médios das variáveis produção de leite (PL), gordura, proteína, lactose, escore de células somáticas (ECS) e cálcio iônico (CAi) de amostras de leite de vacas da raça Jersey em função do nível de estabilidade (alta, intermediária e baixa)

Média	Estabilidade			P
	A	I	B	
PL (litros/vaca/dia)	25,7	26,2	25,6	NS
Gordura (g/100g)	4,50 ^b	4,88 ^{ab}	5,14 ^a	=0,0383
Proteína (g/100g)	3,82	3,91	3,92	NS
Lactose (g/100g)	4,70	4,66	4,63	NS
ECS (log10)	1,81	1,81	1,71	NS
CA _i (mg/L)	81,5 ^b	93,7 ^a	95,0 ^a	<0,001

*Letras diferentes na linha, diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.;

A: Alta estabilidade, acima de 82% v/v; I: Estabilidade intermediária, entre 78 – 80% v/v; B: baixa estabilidade entre 72 – 76% v/v.

Fonte: NEVES – Dissertação de Mestrado (2020).

Os resultados das análises de proteína, lactose e ECS, não apresentaram diferenças ($P>0,05$) em função dos níveis de estabilidade. Dados semelhantes foram encontrados por Oliveira e Timm (2006), onde também não houve diferença nos teores de proteína, porém encontraram diferença significativa no teor de lactose do leite instável ao etanol 70% v/v.

Sobre o ECS, Donatele *et al.* (2003) e Zanela *et al.* (2006), também não encontraram uma relação entre a estabilidade e o aumento da CCS. Já no experimento de Marques (2004), as amostras de leite instável apresentaram ECS mais alto que as amostras de baixa estabilidade.

Os teores de cálcio iônico foram superiores nas amostras de estabilidade intermediária e baixa (93,7 e 95,0mg/L, respectivamente) que o observado nas amostras de estabilidade alta (81,5mg/L).

Como observado por Bansal e Chen (2005), o desequilíbrio mineral no leite interfere no nível de cálcio iônico, elevando-o e deixando o leite mais instável, pois o Ca^{2+} reduz a capacidade da caseína de manter sua estrutura física.

Viero (2008) e Barros *et al.* (1999) também observaram um aumento do cálcio iônico no leite instável comparado ao estável, sendo considerado um dos principais fatores que podem interferir na estabilidade do leite.

4. CONCLUSÃO

Tanto nas amostras de leite de vacas da raça Holandesa, quanto da raça Jersey, o componente que mais apresentou interferência na estabilidade do leite foi o cálcio iônico, visto que seu aumento reduz a capacidade da caseína manter sua estrutura física.

O efeito do nível de estabilidade sobre a composição do leite varia em função da raça e também em condições de manejo, sendo a gordura, o componente do leite que mais sofreu variação em função da estabilidade nos animais da raça Jersey. Por outro lado, a CCS teve influência negativa na estabilidade do leite dos animais da raça Holandesa.

REFERÊNCIAS

- BANSAL, B. & CHEN, X. D. **Skim milk fouling during ohmic heating**, CHEMECA Conference, Brisbane, Australia, 5 jun. 2005. Disponível em: <<https://dc.engconfintl.org/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://scholar.google.com.br/&httpsredir=1&article=1017&context=heatexchanger2005>> Acesso em: 22 de junho de 2021.
- BARBOSA, R. S. *et al.* Efeito do período de lactação e estabilidade do leite sobre as características físico-químicas. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, p. 21-25, 03 mai. 2009. Disponível em: <<http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/download/126/2061>> Acesso em: 22 de junho de 2021.
- BARROS, L. *et al.* Prueba del alcohol em leche y relación con cálcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, v.9, 315p. 1999. Disponível em: <<https://www.scienceopen.com/document?vid=d47ff45a-df3f-4275-810d-aa08b1c2b32b>>. Acesso em: 22 de junho de 2021.
- BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. Em: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**, p.44-57. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2001. Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/leite%20metabolismo.pdf>>. Acesso em: 21 de junho de 2021.
- BAUMAN, D. E.; MATHER, I. H.; WALL, R. J.; LOCK, A L. Major advances associated with the biosynthesis of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1235–1243, 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030206721920>>. Acesso em: 19 de junho de 2021.
- BELOTI, V., *et al.*, **Obtenção, inspeção e qualidade**. p. 417. Londrina - PR: Editora Planta, 2015.
- BRASIL. Instrução Normativa no 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, 30/11/2018, seção q, pg 9. Disponível em: <http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076>. Acesso em: 22 de junho de 2021.
- BRASIL, R.B *et al.* Leite instável não ácido e fatores que afetam a estabilidade do leite. Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás. **Ciência Animal**. p. 15-26, Goiás, 2015.
- CONTI, L. H. A.; SANTOS, M. V. Fatores que afetam a estabilidade do leite ao teste do álcool. **Colunas**. 2009. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/fatores-que-afetam-a-estabilidade-do-leite-ao-teste-do-alcool-parte-1-57809n.aspx#:~:text=A%20mastite%20altera%20a%20permeabilidade,causar%20a%20desestabilizac%3%A7%C3%A3o%20das%20micelas>>. Acesso em: 24 de julho de 2021.
- COSTA, C.H.F. Avaliação microestrutural do leite pasteurizado submetido ao teste do álcool visando processamento UHT. **Dissertação** (mestrado profissional). Universidade Federal de Juiz de Fora. 102p. 2016.
- DABDOUB, S.A.M.; SHOOK, G.E. Phenotypic relations among milk yield, somatic cell count, and

clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, v.67, p.163-164, 1984. Suplemento 1. Disponível em: <<http://www.scielo.org.co/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0120-0690200700040000600006&lng=pt&pid=S0120-06902007000400006>>. Acesso em: 22 de junho de 2021.

DONATELE, D.; *et al.*, Relação do teste do alizarol a 72% (v/v) em leite “in natura” de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. **Higiene Alimentar**, p. 95 – 100, São Paulo, 2003. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-353647>> Acesso em: 22 de junho de 2021.

EDMONSON, A.J., *et al.* A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030289790810>>. Acesso em: 22 de junho de 2021.

EMANUELSON, U.; FUNKE, H. Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 2479 – 2483, 1991. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030291784245>>. Acesso em: 22 de junho de 2021.

EMBRAPA. Anuário Leite 2021: saúde única e total. Editorial. **Embrapa Gado de Leite**. 102p. São Paulo, 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1132875/anuario-leite-2021-saude-unica-e-total>>. Acesso em: 21 de junho de 2021.

FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; ZANELA, M. B.; MARQUES, L. T.; ABREU, A. S.; MACHADO, S. C.; FRUSCALSO, V.; BARBOSA, R. S.; STUMPF, M. T. Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 3, p. 838-849, 2012. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbspa/a/SsBwsPTgmybCwpFjRsRRZHb/?lang=pt>>. Acesso em: 20 de junho de 2021.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. Qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1.ed. Barueri: Manole, 2007. Disponível em: <<https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=497743&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22F%22&qFacets=autoria:%22F%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=2366>>. Acesso em: 20 de junho de 2021.

GONSALES, S. A. Gado Jersey: História, Características e Produção da raça. Artigo. MilkPoint. 2021. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/artigos/produção-de-leite/gado-jersey-historia-caracteristicas-e-produção-da-raça-225762/>>. Acesso em: 11 de agosto de 2021.

GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. p. 44-57. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R. Indicadores metabólicos nutricionais do leite. Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da região Sul do Brasil. **Anais...** p.31–47, Porto Alegre: editora da UFRGS, 2003.

HOLT, C. An equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk. **European Biophysics Journal**, Germany, v. 33, p. 421-434, 2004. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14735251/>>. Acesso em: 21 de junho de 2021.

JENSEN, R. G. Handbook of Milk Composition. **Food Science and Technology**. Academic Press. University of Connecticut. Storrs, Connecticut. 919p. 1995. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/book/9780123844309/handbook-of-milk-composition>>. Acesso

em: 22 de junho de 2021.

LIN, M. J. *et al.*; Measurement of ionic calcium in milk. **International Journal of Dairy Technology**, v.59, n.3, 17 jul, 2006. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1471-0307.2006.00263.x>>. Acesso em: 19 de junho de 2021.

LOPES, L. C. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, Estado de São Paulo. **Dissertação**. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo. 63p. Pirassununga, SP, 2008. Disponível em:< <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-29042008-103024/pt-br.php>>. Acesso em: 22 de junho de 2021.

MACHADO, S.C. **Fatores que afetam a estabilidade térmica do leite bovino**. Tese (Doutorado em Zootecnia). p. 132. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010. Disponível em:< <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26095/000756935.pdf>>. Acesso em: 22 de junho de 2021.

MARÉCHAL, C. LE; THIÉRY, R.; VAUTOR, E.; LOIR, Y. LE. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products-A review. **Dairy Science and Technology**, v. 91, n. 3, p. 247– 282, 2011. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007/s13594-011-0009-6>>. Acesso em: 19 de junho de 2021.

MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (lina) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista brasileira de agrociencia**, v. 13, n. 1, p. 91–97, 2007. Disponível em:< <https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/1343#:~:text=O%20Leite%20Inst%C3%A1vel%20N%C3%A3o%20%C3%81cido,podendo%20alterar%20a%20qualidade%20nutricional.>>. Acesso em: 17 de junho de 2021.

MIKHEEVA, L. M. et al. Thermodynamics of micellization of bovine α -casein studied by high-sensitivity differential scanning calorimetry. **Langmuir**, v. 19, p. 2913-2921, 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/231674998_Thermodynamics_of_Micellization_of_Bovine_b-Casein_Studied_by_High-Sensitivity_Differential_Scanning_Calorimetry>. Acesso em: 17 de junho de 2021.

NEGRI, L.; CHAVEZ, M., TAVERNA, M., ROBERTS, L.; SPERANZA, J. Factores que afectan la estabilidad térmica y la prueba de alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada. **Informe técnico final Del proyecto**. INTA EEA / Rafaela - INTI CITIL Rafaela, 2001. Disponível em:< https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000088&pid=S0100-204X200600050001600011&lng=pt>. Acesso em: 19 de junho de 2021.

O'CONNELL, J.E. & FOX, P.F. The two-stage coagulation of milk proteins in the minimum of the heat coagulation time-pH profile of milk: effect of casein micelle size. **Journal of Dairy Science**. n. 83, p. 378-386, 2001. Disponível em:< <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10750091/>>. Acesso em: 22 de junho de 2021.

OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C.D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.26, n. 2, p. 259-263, Campinas, 2006. Disponível em:< [https://www.scielo.br/j/cta/a/5gSDF9fxDsFNLNDYgmv6drs/?lang=pt#:~:text=As%20menores%20percentagens%20dos%20componentes,%20C%20respectivamente%20\(Tabela%202\).](https://www.scielo.br/j/cta/a/5gSDF9fxDsFNLNDYgmv6drs/?lang=pt#:~:text=As%20menores%20percentagens%20dos%20componentes,%20C%20respectivamente%20(Tabela%202).)>. Acesso em: 23 de junho de 2021.

ORDÓÑEZ, J. A.; *et al.* Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos. **Artmed**. v.1. 279p. Porto Alegre, 2005.

PELIZZA, A. Características de produção e composição do leite e do perfil metabólico de vacas da raça holandês e mestiças holandês x jersey no período do periparto. **Dissertação** (mestrado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-

- Graduação em Ciência Animal, p.126. Lages, 2015. Disponível em:<https://www.udesc.br/arquivos/cav/id_cpmenu/1286/ANGELA_angela_pelizza_15671741967819_1286.pdf>. Acesso em: 23 de junho de 2021.
- PHILPOT, N. W.; NICKERSON, S. C. Vencendo a luta contra a mastite. p. 30. **Ed Westfalia Landtechnik do Brasil**, 2002. Disponível em:<http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=130900&pid=S0073-9855201000010001600024&lng=es>. Acesso em: 19 de junho de 2021.
- PONCE P. Costos, precios y rentabilidad en la lechería tropical. **Revista ACPA**, v. 2, p. 50-51. 2004. Disponível em: <<http://redulac.censa.edu.cu/index.php/es/documentos-cientificos/category/2-articulos-cenlac?download=73:costos-precios-y-rentabilidad-en-la-lecheria-tropical-2004>>. Acesso em: 04 de Setembro de 2021.
- PONCE CEBALLO, P.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**, p.58-68. Porto Alegre: UFRGS, 2001.
- ROSE, D. Heat stability of bovine milk: a review. **Dairy Science Abstracts**. n. 25, p. 45-52, 1963.
- SANTOS, M.V.; MAGALHÃES, C.M. Fatores que alteram a estabilidade do leite. **Revista Leite Integral**. Dez, 2012. Disponível em: <<https://www.revistaleiteintegral.com.br/noticia/fatores-que-alteram-a-estabilidade-do-leite>> Acesso em: 24 de Julho de 2021.
- SILVA, G.; SILVA, A. M. A. D.; FERREIRA, M. P. B. **Processamento de Leite**. Curso Técnico em Alimentos. 167p. Recife, 2012. Disponível em: <<http://pronatec.ifpr.edu.br>>. Acesso em 11 de agosto de 2021.
- SILVA, L. C. C.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; YAMADA, A. K.; GIOMBELLI, C. J.; SILVA, M. R. 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, p. 55-60, 2012.
- SILVA, P. H. F.; **Fatores determinantes para a sedimentação e geleificação**. p. 128. Juíz de Fora, MG, 2004.
- TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 4ª Ed. p.195. Santa Maria: Ed. UFSM. 2010.
- VIERO, V. Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido. **Dissertação**. Produção Animal, Faculdade de Agronomia, p. 91. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. 2008. Disponível em:< <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/14336>>. Acesso em: 20 de junho de 2021.
- WALSTRA, P. *et al.* Dairy Technology: principles of milk properties and processes. **Food Science and Technology**. 727p, 1999. Disponível em:<[https://books.google.com.br/books/about/Dairy_Technology.html?id=zdn2bMRhZc4C&redir_esc=y#:~:text=Describes%20the%20efficient%20transformation%20of,between%20products%20and%20processing%20equipment](https://books.google.com.br/books/about/Dairy_Technology.html?id=zdn2bMRhZc4C&redir_esc=y#:~:text=Describes%20the%20efficient%20transformation%20of,between%20products%20and%20processing%20equipment.)>. Acesso em: 20 de junho de 2021.
- ZANELA, M. B. *et al.* Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesq. agropec. bras.**, v.41, n.5, p.835-840, Brasília, maio. 2006. Disponível em:<<https://www.scielo.br/j/pab/a/x45kPmHFJYbR3pGs3ndHzCG/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 22 de junho de 2021.
- ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; FISCHER, V.; GOMES, J.F.; STUMPF JR, W. Ocorrência do leite instável não no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p.1009-1013, 2009.
- ZANELA, M. B. *et al.* Lina: passado, presente e futuro. In: PRADIEÉ, J; PEGORARO, L. M. C;

DERETI, R. M. **Evolução da pecuária leiteira**, 1º edição, p. 27-30. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2017. Disponível em:< <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1082808/evolucao-da-pesquisa-em-pecuaria-leiteira>>. Acesso em 23 de junho de 2021.