

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

Fatores que Afetam a Estabilidade do Leite Bovino

Sandro Charopen Machado
Médico Veterinário (URCAMP)

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Doutor em
Zootecnia
Área de Produção Animal

Porto Alegre-RS, Brasil
Fevereiro, 2010

DEDICATÓRIA

À Silviane e Isadora, razões de minha
vida, força no momento da luta.

Aos meus pais e irmãos, raízes do meu
caráter.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por dar-me o poder da dúvida, do questionamento, matéria prima da pesquisa científica;

Aos meus familiares, pai, mãe e irmãos, pela base familiar que tive com alicerce de meu caráter;

A minha esposa Silviane e Minha filha Isadora, pelo apoio, compreensão, amor e carinho nos momentos que mais precisei. AMO VOCÊS;

Aos meus amigos, colegas e companheiros Vitório Viero e Alexandre S. Abreu, pelo companheirismo e ajuda nos momentos necessários;

Aos professores e funcionários do programa de Pós-graduação em Zootecnia, pelos ensinamentos passados;

Ao amigo e companheiro na realização desse trabalho Fábio Rodrigo Guaragni, pelo apoio que tornou possível a execução desse trabalho;

Aos alunos Luis Henrique Sandri, Luis Eduardo Sandri, Thais S. de Ávila, Fernanda Shneider, Camila Novak, pela ajuda no laboratório na realização dos experimentos;

À Cooperativa Piá, por permitir a realização do trabalho em suas instalações, sendo uma parceira permanente execução dos experimentos;

À banca examinadora pela ajuda imprescindível para a melhoria desse trabalho escrito;

A todas as pessoas que de alguma forma participaram desse momento de minha vida;

Por fim, à pessoa mais incrível que conheci no meio acadêmico, um mixto de professora, tutora, orientadora, mãe, colega, amiga. Professora Vivian Fischer, não tenho dúvidas em dizer que Deus colocou em meu caminho, um feixe de sua luz divina o que tornou minha caminhada, senão mais fácil, pelo menos mais suave. *התוא בהוא לש תולילק ולש חוכה לש חוכה* (No poder de sua força e na leveza do seu carinho, a vida se transforma em PAZ).

Fatores que Afetam a Estabilidade do Leite Bovino¹

Autor: Sandro Charopen Machado

Orientadora: Prof. Dra. Vivian Fischer

RESUMO

Entre os anos de 2007 e 2009, no nordeste do Rio Grande do Sul, foi conduzido um estudo para avaliar a ocorrência de leite instável não ácido, fatores que afetam a estabilidade do leite bovino e a relação entre o teste do álcool e o teste de tempo de coagulação do leite. Fez-se um questionário para a tipificação das propriedades, um levantamento mensal do leite de 50 propriedades, e se analisou a acidez, coagulação na fervura e no álcool e tempo de coagulação no tanque, além da composição química, células somáticas e contagem bacteriana. Posteriormente, foi realizado um experimento avaliando dietas com três proporções de concentrado (35, 45 e 55%), por 56 dias, avaliando o número de dias em lactação, produção leiteira, peso, condição corporal, características físico-química do leite, pH ruminal e da urina e composição química do sangue. Complementarmente foram realizados quatro protocolos experimentais para avaliar o efeito da temperatura sobre o teste do álcool, o efeito do citrato sobre a estabilidade do leite, o efeito do uso de capilares de diferentes tamanhos sobre o resultado de tempo de coagulação e o uso de diferentes metodologias analíticas para determinação de lactose no leite. A análise estatística dos dados foi efetuada com o programa SAS (2001), avaliando a frequência de ocorrência de fatores (Proc FREQ), correlação (Proc CORR), variância (Proc GLM) e regressão (Proc REG), sendo que no experimento com animais as médias foram ajustadas utilizando dias em lactação, e os valores iniciais de cada atributo como co-variáveis. Foram observados elevada incidência de LINA, CCS e CBT, pouca interferência da dieta na ocorrência de LINA e na alteração da composição do leite e baixa correlação entre o teste do álcool e o tempo de coagulação no tanque. Não houve relação entre o teste da fervura e os testes do álcool e do tempo de coagulação. O citrato melhorou a estabilidade do leite medida no teste do álcool e no tempo de coagulação. A temperatura do leite (4 x 20°C) não interferiu no resultado do teste do álcool. As dimensões dos capilares de teste do tempo de coagulação modificam os valores obtidos, podendo prejudicar a comparação entre diferentes laboratórios. Entre os fatores testados, os que atuaram sobre a estabilidade do leite no teste do álcool foram: a concentração inicial de álcool capaz de induzir a coagulação, a concentração de cátions divalentes em relação aos monovalentes e o teor de sódio do leite. Em relação ao teste do tempo de coagulação, apenas o seu valor inicial foi significativo. Conclui-se que a ocorrência da instabilidade do leite é elevada, a composição mineral do leite foi a que exerceu maior influência sobre os resultados no teste do álcool, não foram detectados fatores que influenciaram o teste do tempo de coagulação nem o da fervura. Não se pode ainda recomendar outro teste para substituir o teste do álcool.

Palavras-chave: composição do leite, álcool, tempo de coagulação, nutrição, leite instável.

¹ Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, (191p.), fevereiro, 2010.

Factors Affecting the Stability of Bovine Milk¹

Author: Sandro Charopen Machado

Adviser: Prof. Dra. Vivian Fischer

ABSTRACT

Between 2007 and 2009 in the Northeastern Rio Grande do Sul, a study was conducted aiming to evaluate the occurrence of unstable non-acid milk, the factors affecting the stability of bovine milk and the degree of relationship between test results and alcohol test coagulation time of milk. Was carried out initially, a questionnaire for the characterization of the properties, then a monthly survey of milk from 50 properties, and examined the acidity (acidity and pH), coagulation test and the boiling alcohol and clotting time in tank, and chemical composition, somatic cell and bacterial count. Later we performed an experiment on animals, which were fed with three different proportions of concentrate (35, 45 and 55%) for 56 days and were evaluated the number of days in milk, milk production, weight, body condition, features physical chemistry of milk, pH and composition of urine and blood chemistry. In addition were performed four experimental protocols to evaluate the effect of temperature on the alcohol test, the effect of citrate on the stability of milk, the effect of using capillaries of different sizes on the results of clotting time and the use of different analytical methodologies for determination of lactose in milk. The statistical analysis was performed with SAS software (2001), evaluating the occurrence of factors (Proc FREQ), correlation (CORR), variance (Proc GLM) and regression (Proc REG), and the experiment animals the means were adjusted using days in milk, and the initial values of each attribute as covariates. We observed high levels of incidence of LINA, CCS and CBT, little interference from the diet in the occurrence of LINA and change the composition of milk and low correlation between the alcohol and the clotting time in the tank. There was no relationship between the boiling test and tests for alcohol and clotting time. Citrate exerted positive action on the stability of milk as the test of alcohol and the clotting time. The temperature of milk during the test (4 x 20 ° C) had no effect on the test result of alcohol. The dimensions of the capillary test of clotting time modify the values and may undermine the comparison between different laboratories. Among the factors tested, acted on the stability of milk alcohol test were: the initial concentration of alcohol to induce coagulation, the concentration of divalent cations compared to monovalent and sodium content of milk. For the test of clotting time, only the initial value was significant. It is concluded that the occurrence of instability of the milk is high, the factors measured, the mineral composition of milk that was the greatest influence on the results in the alcohol, but not detected factors influencing the test of clotting time or to the boil. You can not even recommend another test to replace the alcohol test.

Keywords: composition of milk, alcohol, coagulation time, nutrition, milk unstable.

¹ Doctoral thesis in Animal Science - Animal Production, Faculty of Agronomy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, (191p.), February, 2010.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.2. HIPÓTESE.....	4
1.3. OBJETIVOS.....	5
CAPÍTULO II.....	7
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
2.1 Leite.....	8
2.1.1 Composição do leite.....	8
2.1.2 Estrutura micelar da caseína.....	9
2.1.3 Composição e disposição dos sais do leite.....	10
2.1.4 Características físicas do leite.....	11
2.2. Estabilidade térmica do leite.....	11
2.2.1 Fatores intrínsecos que afetam a estabilidade térmica do leite.....	12
2.2.1.1 Acidez.....	12
2.2.1.2 Sais do leite.....	13
2.2.1.2.1 Cálcio iônico.....	14
2.2.1.2.2 Citrato.....	15
2.2.1.2.3 Fosfatos.....	16
2.2.1.3 Proteínas do leite.....	16
2.2.1.4 N-uréico.....	17
2.2.1.5 Lactose.....	18
2.2.2 Fatores Extrínsecos que afetam a estabilidade térmica do leite.....	18
2.2.2.1 Período do ano.....	19

2.2.2.2 Tempo de lactação.....	20
2.2.2.3 Mastite.....	20
2.2.2.3.1 Células Somáticas.....	21
2.2.2.3.2 Contagem Bacteriana.....	22
2.2.2.4 Nutrição.....	23
2.2.3 Efeito do calor sobre os componentes e a estabilidade do leite.....	24
2.3 Estabilidade ao álcool.....	24
2.3.1 O teste do álcool de acordo com a Instrução Normativa 51..	25
2.3.2 Fatores que interferem no teste do álcool.....	26
2.3.2.1 Concentração de etanol.....	26
2.3.2.2 Acidez.....	27
2.3.2.3 Cálcio iônico.....	27
2.3.2.4 Temperatura.....	28
2.4 Estabilidade térmica VS estabilidade ao álcool.....	28
2.5 Testes que avaliam a estabilidade térmica.....	30
2.5.1 Métodos subjetivos para a avaliação da estabilidade térmica.....	30
2.5.2 Métodos objetivos para a avaliação da estabilidade térmica do leite.....	31
2.5.3 Modelo matemático de estimação da estabilidade térmica do leite.....	32
2.6 Leite instável não ácido (LINA).....	32
2.6.1 Efeito da composição do leite sobre o LINA.....	32
2.6.2 Perfil sanguíneo dos animais que apresentam leite instável não ácido (LINA).....	33

CAPÍTULO III.....	34
Qualidade do leite na serra gaúcha: composição, ocorrência e etiologia do leite instável não ácido e comparação entre teste do álcool e tempo de coagulação.....	35
CAPÍTULO IV.....	65
Efeito de diferentes proporções de concentrado na dieta sobre o perfil sanguíneo do animal, características físico-químicas e de estabilidade do leite.....	66
CAPÍTULO V.....	84
Efeito da adição de citrato de sódio sobre a estabilidade do leite medida no teste do álcool e tempo de coagulação.....	85
CAPÍTULO VI.....	94
Percentual de lactose em leite cru determinada por duas técnicas analíticas.....	95
CAPÍTULO VII.....	101
Efeito do uso de capilares com diferentes medidas sobre o resultado do tempo de coagulação de leite cru.....	102
CAPÍTULO VIII.....	108
O efeito da temperatura do leite sobre o resultado do teste do álcool.....	109
CAPÍTULO IX.....	115
9. DISCUSSÃO GERAL.....	116
CAPÍTULO X.....	123
10. CONCLUSÃO GERAL.....	124
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	126

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO II.....	7
Tabela 1: Composição média do leite de diferentes raças bovinas.....	9
CAPÍTULO III.....	34
Tabela 1- Caracterização das Unidades de Produção de Leite (UPL) da região de estudo.....	41
Tabela 2- Análise descritiva das características físico-químicas e sanitárias do leite produzido por 50 produtores na região nordeste do RS.....	44
Tabela 3- Percentual de ocorrência dos valores determinados normais para lactose, proteína, gordura e sólidos totais em amostra de leite de tanque da região serrana do RS nos anos de 2007, 2008 e 2009.....	47
Tabela 4- Análise da correlação entre diferentes fatores com a concentração de álcool e o tempo de coagulação no tanque (TCT) em leite, nos anos de 2007, 2008 e 2009.....	53
Tabela 5: Médias, máxima e mínima e análise estatística do efeito mês, ano e interação mês/ano referente às características físico-químicas, microbiológicas, leite instável e tempo de coagulação.....	56
CAPÍTULO IV.....	65
Tabela 1: Média e desvio padrão do peso vivo, condição corporal, produção de leite e estágio de lactação das vacas ao início do experimento, antes de receberem as dietas.....	70
Tabela 2: Quantidades “in natura” diárias dos alimentos fornecidos às vacas leiteiras de acordo a proporção de concentrado na dieta.....	71
Tabela 3: Resultados médios de acordo com o nível de concentrado na dieta e sua significância sobre as características dos animais.....	73
Tabela 4: Valores de médias de acordo com a proporção de concentrado na dieta e sua significância sobre as características físico-químicas do leite.....	75
Tabela 5: Nível de significância entre as médias das variáveis sanguíneas afetadas pela proporção de concentrado na dieta.....	76
Tabela 6: Frequência de casos de leite instável ao álcool 78% v/v, dentro dos tratamentos propostos.....	77
Tabela 7: Resultados médios do leite estável e LINA e sua significância sobre a característica dos animais, produção, aspectos físicos e químicos do leite e do sangue.....	78
Tabela 1: Comparação entre as médias da concentração de álcool em relação às temperaturas das amostras.....	112

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO II.....	7
Figura 1: Curva de estabilidade do leite ao álcool em relação ao pH....	27
Figura 2: Curvas da estabilidade térmica do leite de acordo com o pH.	29
Figura 3: Curvas da estabilidade ao álcool do leite de acordo com o pH.....	29
CAPÍTULO III.....	34
Figura 1- Distribuição das freqüências de LINA (78% etanol v/v) durante os meses, nos anos de 2007, 2008 e 2009 na região nordeste do RS.....	51
Figura 2- Concentração média de etanol na solução alcoólica (% v/v) necessária para a coagulação do leite coletado de 50 produtores na região nordeste do RS, nos meses de 2007, 2008 e 2009.....	52
Figura 3: Distribuição das médias de pH nos meses, durante os três anos de experimento.....	57
Figura 4: Médias, transformadas por logaritmo, de contagem bacteriana distribuída pelos meses, nos três anos do experimento.....	58
Figura 5: Teores de lactose distribuídos pelos meses, nos três anos do experimento.....	58
Figura 6: Médias de proteína distribuídas pelos meses, nos três anos do experimento.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS

BPF	Boas Práticas de fabricação
APPCC	Análise de perigos e pontos críticos de controle
UHT	<i>Ultra high temperature</i>
ABLV	Associação Brasileira da Indústria Longa Vida
IN	Instrução Normativa
LIT	Leite instável termicamente
LINA	Leite instável não ácido
CN	Caseína
g/mL	Gramas por mililitro
CCS	Contagem de células somáticas
CBT	Contagem bacteriana total
°D	Graus Dornic
SP	Soro proteínas
B-Lg	Beta lactoglobulina
TCT	Tempo de coagulação no tanque
TC	Tempo de coagulação
cs/mL	Células somáticas por mililitro
UFC/mL	Unidade formadora de colônias por mililitro
CMT	<i>Califórnia Mastitis Test</i>
SARLE	Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros
UPL	Unidade Produtora de Leite
% v/v	Por cento, volume/volume
ND	Não determinado
NS	Não significativo

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

A partir de um consumidor com maior acesso a informação, tem-se ampliado a busca por alimento de qualidade, baseado nos princípios de segurança alimentar, sendo que essa qualidade é tanto relacionada à composição nutricional como em relação à inocuidade, sendo dessa forma também para o leite.

Na busca por um produto saudável, inócuo e que traga benefício para a saúde humana, a indústria laticinista têm aprimorado as formas de diminuir os riscos, principalmente microbiológicos e físicos do produto que oferta ao consumidor, sendo que essas ações passam desde processos de qualidade total como é o caso das boas práticas de fabricação (BPF) e análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), até técnicas de processamento térmico do leite, como é o caso do leite ultra alta temperatura (U.H.T.).

De acordo com a Associação Brasileira da Indústria Longa Vida (ABLV), a produção de leite U.H.T. teve um incremento de 60% em sua produção entre os anos de 1993 a 2007, ficando nesse último levantamento em torno de 7 bilhões de litros produzidos sendo que desses, em torno de 5 bilhões são de produção e consumo | mercado interno.

A partir do uso de técnicas mais eficientes para o desenvolvimento de um produto de qualidade, como é o caso do U.H.T., demandou-se por uma matéria prima de qualidade e com maior capacidade de suportar os tratamentos térmicos que são impostos ao leite.

Dessa forma, a legislação brasileira, a partir do ano de 2002,

constituiu um conjunto de regulamentos que especificam um leite de qualidade, tanto do ponto de vista físico e químico, bem como microbiológico, sendo que após a Instrução Normativa nº 51 do Ministério da Agricultura, houve um movimento de modificação da atividade laticinista no país, impondo à indústria e aos produtores, uma nova forma de pensar o leite.

Na região Sul do Brasil, a cadeia produtiva do leite é social e economicamente expressiva, sendo composto por uma grande variedade de propriedades com diferentes características de modelo de trabalho, relevo, clima e produção, muitas vezes limitando a eficiência produtiva. Os principais fatores que limitam a eficiência dos sistemas de produção da Região Sul estão relacionados ao manejo da alimentação, da reprodução e da sanidade dos rebanhos, bem como à qualidade do leite. Isto acarreta na ineficiência de produção e numa insatisfação por parte dos produtores, que vão observando uma redução de seus rendimentos com a atividade.

Além dos fatores normais de estrangulamento da atividade laticinista, acrescenta-se a eles os problemas relacionados com a estabilidade do leite, sendo que essa questão vem sendo amplamente discutida há vários anos e em várias regiões do mundo, demonstrando a importância de sua influência na atividade, gerando problemas que passam pelo descarte de matéria prima que teriam condições de processamento e consumo, uma vez que, as indústrias com a idéia de melhor aferir a estabilidade térmica do leite, utilizam maiores concentrações de etanol no teste do álcool, passando de 72% v/v, teor mínimo recomendado pela legislação, para 78% v/v.

Isso confunde e desestimula os produtores, que tem sua matéria prima descartada ou desvalorizada, podendo levar até a desistência, por parte

de produtores, de sua atividade principal dentro da propriedade por acreditar que a indústria não tenha interesse no seu produto.

Vários estudos procuram estabelecer os principais fatores que interferem na estabilidade do leite e, dessa forma, gerar mecanismos que visem dirimir essa problemática na atividade leiteira, buscando um equilíbrio entre produção, produtividade e qualidade, mantendo uma atividade de alta importância sócio-econômica.

Entre os estudos a respeito da estabilidade do leite, torna-se recorrente a discussão sobre a importância real do teste do álcool no sistema de produção, uma vez que vários países não utilizam mais esse teste como única referência de qualidade, podendo não ser utilizado ou em conjunto com outros testes, como é o caso da fervura.

1.2. HIPÓTESE

A incidência de leite instável não ácido na região nordeste do RS deve acompanhar a alta incidência encontrada em outras regiões do estado e do país, e os principais fatores que interferem nessa problemática são a nutrição, as características de composição do leite e alta contagem bacteriana;

Os resultados de tempo de coagulação não apresentam correlação com os resultados de positividade ao teste do álcool;

Diferentes proporções de concentrado na dieta interferem na composição, na estabilidade ao álcool e no tempo de coagulação do leite;

A adição de citrato aumenta a estabilidade ao álcool e o tempo de coagulação do leite submetido a altas temperaturas;

A temperatura do leite não interfere no resultado final do teste do álcool;

As dimensões dos capilares apresentam ingerência sobre o resultado final do teste de tempo de coagulação;

Existe diferença significativa na concentração de lactose medida por duas técnicas analíticas distintas.

1.3. OBJETIVOS

Avaliar os aspectos relacionados com as alterações da estabilidade do leite;

- Caracterizar os sistemas de produção e sua relação com o problema da instabilidade;
- Avaliar a ocorrência da instabilidade térmica (LIT) e ao álcool (LINA) na região nordeste do estado do RS;
- Verificar a existência de correlação entre os resultados do teste do álcool e do tempo de coagulação do leite;
- Identificar os principais fatores que interferem na estabilidade do leite;
- Avaliar os efeitos da nutrição e contagem bacteriana sobre a composição e os aspectos de instabilidade térmica do leite.
- Avaliar o efeito da adição de citrato sobre a estabilidade ao álcool e o tempo de coagulação do leite;
- Comparar o efeito do tamanho do capilar sobre os resultados de tempo de coagulação do leite;
- Analisar o efeito da temperatura do leite no momento do teste, sobre o resultado final do teste do álcool;
- Investigar dois métodos analíticos distintos para a determinação da concentração de lactose.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Leite

O leite pode ser descrito sob o ponto de vista legal, a partir da Instrução Normativa n° 51 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), como produto de ordenha completa, ininterrupta, sob condições de higiene, oriundo de vacas em condições de bem estar animal (Brasil, 2002). Acrescenta-se ainda a visão biológica, descrevendo a condição de mistura homogênea de duas substâncias que se encontram tanto em emulsão quanto em suspensão (Órdoñez et al., 2005).

2.1.1. Composição do leite

González (2001) caracteriza o leite como uma emulsão de glóbulos de gordura e uma suspensão de micelas de caseína em uma fase aquosa, contendo ainda, moléculas de lactose, proteínas do soro e minerais, todos solubilizados (tabela 1). Além das funções biológicas, de acordo com Fonseca e Santos (2000), o leite oferece grandes possibilidades de processamento industrial para a obtenção de diversos produtos para a alimentação humana.

Tabela 1: Composição média do leite de diferentes raças bovinas.

Raça	Gordura %	Proteína %	Lactose %	Cinzas %	Sólidos totais %
Parda suíça	4,0	3,6	5,0	0,7	13,3
Holandês	3,5	3,1	4,9	0,7	12,2
Jersey	5,5	3,9	4,9	0,7	15,0
Ayrshire	4,1	3,6	4,7	0,7	13,1
Guernsey	5,0	3,8	4,9	0,7	14,4
Zebuínas	4,9	3,9	5,1	0,8	14,7

Fonte: adaptado de Órdoñez et al. (2005); Gonzalez (2001).

2.2 Estrutura micelar da caseína

A base da estabilidade do leite está vinculada a estrutura micelar da caseína, sendo que essa estruturação mantém uma força de repulsão o que é

determinado como estabilidade.

A caseína se apresenta como uma proteína globular de conformação quaternária e anfipática tendo uma porção hidrofóbica que se interioriza na estrutura micelar e uma porção hidrofílica superficial e, por contar com poucas ou quase nenhuma estrutura secundária e terciária, a caseína apresenta maior resistência ao efeito do calor (Walstra, 1999; Fox & Brodtkorb, 2008). Por apresentar uma exposição das porções hidrofóbicas das sub-micelas, há uma associação dessas e assim, a conformação micelar da caseína, torna-a insolúvel em água (Goff, 2006).

Dessa forma, observa-se que a caseína é formada por uma junção de sub-micelas, principalmente a α_{s1} -caseína (α_{s1} -CN), sem cisteína e mais suscetível ao efeito de proteases; α_{s2} -caseína (α_{s2} -CN), é uma sub-micela altamente hidrofílica, fosforilada e com grande sensibilidade ao cálcio ionizável; β -caseína (β -CN), apresenta maior quantidade de prolina e pode se tornar mais aberta em baixas temperaturas, ficando mais suscetível ao efeito de proteases; κ -caseína (κ -CN), micela de pequeno tamanho, extremamente forte de, difícil solubilização, pouco sofre efeito do cálcio livre, seria a principal sub-micela responsável pela característica de estabilidade protéica e γ -caseína (γ -CN) que é o resultado da ação proteolítica sobre a β -CN. Cada uma tem uma proporção variada, sendo que as sub-micelas se diferenciam a partir de sua composição de aminoácidos (Cheftel et al., 1989).

2.3 Composição e disposição dos sais do leite

Além da estrutura e organização de aminoácidos, outro fator de relevância para a estabilidade do leite é a sua composição mineral, o que determina o equilíbrio iônico entre as fases em que se encontram os minerais

que compõe o leite (Negri, 2002).

O leite é composto por uma grande variedade de minerais que se apresentam integrados as micelas protéicas, isolados ou interligados dependendo da sua capacidade de ligação. Dessa forma, distribui-se os minerais do leite em dois compartimentos biológicos ou fases, a fase solúvel ou livre e a fase coloidal ou aquela que está ligada à micela caseínica (Alais, 1985; Órdoñez et al., 2005).

Os sais se mantêm em constante equilíbrio, passando de uma fase a outra dependendo da condição, entre as quais pode-se citar o pH, a temperatura, a concentração salina e essa mobilidade dos sais no leite podem interferir de forma bastante forte, nas características de estabilidade do leite (Walstra & Jenness, 1984).

2.4 Características físicas do leite

O leite apresenta algumas características que determinam propriedades específicas tais como: densidade, determinada como o peso específico, é uma relação entre os componentes que estão em solução e suspensão contra o percentual de gordura, ficando seus valores em torno de 1,028 a 1,032 g/mL de leite (Walstra & Jenness, 1984).

Outra característica importante é a acidez, que é a medida capaz de avaliar o equilíbrio ácido/base do leite, sendo que o leite é um composto levemente ácido, a partir dos fosfatos inorgânicos, caseína, proteínas do soro, gás carbônico e os ácidos formados a partir da decomposição da lactose, sendo uma acidez titulável considerada normal entre 14 – 18 °D (Órdoñez et al., 2005). A crioscopia é outro ponto fundamental da propriedade do leite, sendo esse o ponto de congelamento da matéria prima e, é o resultado da

proporção entre os sólidos e a água do leite. Seus valores normais ficam entre -0,525 a -0,535°C (Walstra & Jenness, 1984).

Essas características são de fundamental importância para a determinação da qualidade do leite que, com a composição, a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT), descrevem as possibilidades que se tem de processamento da matéria prima (Silva et al, 1997; Fonseca e Santos, 2000).

2.2. Estabilidade térmica do leite

Considera-se que o leite, por ser um meio aquoso e com uma boa composição protéica, teria a característica de gel, entretanto, a conformação das proteínas, conjuntamente com a disposição dos demais elementos do leite, impedem a agregação das proteínas e, portanto, a não formação de grumos, determinando então a chamada estabilidade (Walstra & Jenness, 1984).

Baseado nesse conceito e a partir do avanço das tecnologias de processamento do leite, pode-se descrever que a estabilidade térmica que é a capacidade que o leite tem de suportar o efeito do calor sem a formação de grumos (Singh, 2004).

Todavia, cabe ressaltar que a estabilidade do leite é multifatorial e está diretamente relacionada à estrutura protéica do mesmo e, principalmente a sua porção caseínica, sendo essa a responsável pela manutenção da estrutura física do leite (Van Boekel, 1993).

2.2.1 Fatores intrínsecos que afetam a estabilidade térmica do leite

2.2.1.1 Acidez

O leite apresenta uma acidez natural que ocorre a partir de sua

composição química assim como a partir de ácidos formados (Velooso, 1998). Dessa forma, o leite é considerado normal quando apresenta uma acidez titulável entre 14 e 18 °D (Brasil, 2002). O potencial hidrogeniônico do leite fica em média, entre 6,6 a 6,8, contudo, para efeito de análise para o aproveitamento na indústria, a acidez titulável é o teste de eleição (Tronco, 1997).

A acidez do leite pode ser influenciada por vários fatores distintos com o tempo de lactação, processos inflamatórios e infecciosos da glândula mamária, ação enzimática endógena e exógena, entre outros (Tronco, 1997; Barbosa et al., 2006b).

Baseado nisso, se postulou que pode ocorrer uma variação da estabilidade térmica do leite, de acordo com a variação do pH da matéria prima, mesmo estando dentro da faixa considerada normal (6,6 a 6,8) e, essa variação pode ser mínima e distinta de acordo com as características químicas do leite (Rose, 1961).

O pH interfere na estabilidade térmica do leite, uma vez que em pH ácido (abaixo de 6,5), reduz força iônica para a manutenção da estrutura micelar (Rose, 1963), o que determina um deslocamento do cálcio da fase coloidal para solúvel, aumentando o cálcio iônico (Van Boekel, 1993).

Na maioria dos leites, a máxima estabilidade térmica se dá em um pH próximo a 6,7 e, isso ocorre porque nessa faixa, há uma agregação de proteínas do soro (albumina e globulina), com a superfície micelar. Quando o pH passa de 6,9, há a dissociação das soro proteínas e também da κ -CN o que determina uma redução da estabilidade do leite (O'Connell & Fox, 2000; Singh, 2004).

O pH do leite pode sofrer interferência dos processos de aquecimento, uma vez que a lactose pode ser decomposta em ácidos orgânicos determinando uma diminuição do pH o que levaria a um deslocamento da faixa de máxima estabilidade do leite (Silva, 2004; Silva e Almeida, 2006; Singh, 2004).

2.2.1.2 Sais do leite

Tem-se bem claro que a mobilidade dos sais nas distintas fases, são um dos principais fatores de interferência na estabilidade térmica do leite, principalmente pelo aumento do cálcio na fase solúvel e pela diminuição da atividade de fosfatos e citratos (Silva, 2004). Há uma correlação direta entre a estabilidade do leite e as relações de equilíbrio entre os sais na forma solúvel e coloidal (Rose, 1961).

2.2.1.2.1 Cálcio iônico

Este é considerado o principal fator de interferência na estabilidade do leite, sendo que os níveis de cálcio iônico no leite, interferem tanto na estabilidade térmica quanto na estabilidade ao álcool (Chavez et al., 2004), uma vez que o incremento desse sal no leite, diminui consideravelmente a capacidade da caseína em manter a sua estrutura física (Bansal & Chen, 2001).

Deve-se considerar ainda, que o equilíbrio mineral do leite entre as duas fases (coloidal e solúvel), sempre deve ser mantida e, dessa forma, sempre que houver uma situação de desequilíbrio haverá uma compensação e, esse fato pode determinar um aumento do cálcio iônico, que determinaria uma alteração da estabilidade do leite (Lin et al., 2006). Esse mecanismo é descrito quando em uma situação do aumento de cálcio no leite, esse é deslocado da

fase solúvel para a coloidal o que acaba afetando a estabilidade do leite (Silva, 2004).

Os níveis de Ca^{2+} são altamente afetados por fatores distintos, entre os quais pode-se citar a temperatura do leite, a adição ou retirada do cálcio, o tempo de estocagem e o pH (Lin et al., 2003; Lin et al., 2006). Talvez o pH seja o fator de maior interferência nesse componente, mesmo que esteja dentro dos valores normais de acidez (6,6 – 6,8), pois variações entre o pH e os níveis de cálcio iônico no leite, foram inversamente proporcionais (Barros, 2002; Barbosa et al., 2006b). Outros fatores de interferência na composição de Ca^{2+} no leite são o tempo de lactação, que se sugere que vacas no início e final de lactação apresentam maiores níveis de cálcio iônico (Barros, 2002); o tempo entre a coleta de amostra e a medida do cálcio iônico seria outro fator, com aumento dos níveis em até oito horas após a coleta (Barbosa et al., 2006a).

O aumento do nível de cálcio iônico no leite aumenta a força iônica e, dessa forma, a ligação de íons a grupos carregados da proteína, o que leva uma diminuição da repulsão eletrostática o que favorece a aglutinação protéica (Mikheeva et al., 2003). Essa diminuição da repulsão eletrostática parece estar relacionada à desestruturação micelar e conseqüente aumento da hidrofobicidade, o que determina uma maior agregação por parte das micelas (Philippe et al., 2003).

2.2.1.2.2 Citrato

Em torno de 94% do citrato se encontra na fase solúvel e deste, mais ou menos 85% está ligado ao cálcio e ao magnésio e, 6% se apresentam na fase coloidal ligado às subunidades das micelas caseínicas (Fox, 1991), sendo sintetizado em sua maior parte, no interior das células epiteliais do alvéolo

mamário (Linzell et al., 1976).

O citrato aumenta a estabilidade do leite, tanto frente ao teste do álcool como ao teste de tempo de coagulação (Machado et al., 2009), sendo que esse apresenta a característica de seqüestrar o cálcio livre, diminuindo o seu efeito sobre a micela de caseína (Fox, 1991; Varnam e Sutherland, 1995), determinando dessa forma, alterações na estabilidade do leite (Silva e Almeida, 2006).

Os níveis de citrato apresentam correlação direta com a alimentação dos animais, sendo que os volumosos são as principais fontes desse componente, onde dietas pobres em volumosos determinam baixas produções de citrato, como encontrado por Silva (2004) em trabalhos realizado nas regiões sudeste, centro oeste e sul do Brasil. Inclusive se sugere que os níveis de citrato no leite são inversamente proporcionais à síntese de gordura por parte das células mamárias (Peaker & Faulkner, 1983).

2.2.1.2.3 Fosfatos

Os fosfatos têm o efeito básico de manter a estrutura micelar (Gaucheron, 2005) e, seu posicionamento nas distintas fases do leite, está relacionado ao pH, sendo que em ambientes mais ácidos, o fosfato coloidal passa à fase solúvel o que determina uma desestabilização do leite (Rose, 1962).

O fosfato determina uma redução do cálcio iônico no leite, determinando um aumento da estabilidade (Horne & Muir, 1990), todavia, o seu efeito é menos duradouro que o citrato por esse se manter por mais tempo na fase solúvel (Singh, 2004).

2.2.1.3 Proteínas do leite

A relação entre a κ -CN e a β -lactoglobulina (β -Lg) solúvel é um dos fatores de interferência no comportamento térmico do leite (Singh & Creamer, 1992), uma vez que as soroproteínas (SP) sofrem desnaturação a partir do tratamento térmico e, ao reagirem com a caseína, interferem na estabilidade térmica, podendo tornar o leite tanto estável quanto instável (Singh, 2004; Silva e Almeida, 2006 e Anema & Li, 2003).

A β -Lg apresenta essa característica por ser uma proteína termolábil, a partir da sua configuração de grupos sulfidrilo e, a partir de certa capacidade de sequestrar o cálcio em um dado pH, foi sugerido ser essa proteína uma das responsáveis pelo desenvolvimento de um leite tipo A, de acordo com a curva da relação pH Vs tempo de coagulação (TCT) (O'Connell & Fox, 2001).

Dessa forma, pode-se admitir que a β -Lg apresenta um efeito protetor da micela em um pH entre 6,5 a 6,7 e, em pH acima de 6,9, essa SP apresenta um efeito desestabilizante por modificar o potencial zeta da micela e, o que determinaria de qual forma a β -Lg vai agir seria os níveis de cálcio iônico presente no leite (Singh & Fox, 1987).

2.2.1.4 N-uréico

O teor de N-uréico no leite está relacionado à dieta dos animais, esses níveis de uréia devem sempre ser analisados levando em conta a composição protéica do mesmo, sendo que amostras com valores acima de 3,2% de proteína, devem conter um máximo de 18 mg/dL de nitrogênio uréico. Quando os valores ultrapassam o determinado, há um indicativo de excesso de proteína degradável na dieta ou uma deficiência de carboidratos de fácil

fermentação (Perez Jr., 2001; Caldeira, 2005).

A correlação entre a estabilidade térmica e a concentração de uréia no leite é o único fato realmente comprovado (Singh, 2004), inclusive o TC pode ser estimado utilizando a equação $TC=0,45U+3,04$, considerando que esse tempo a ser estimado seria a uma temperatura de 140°C (Fox & Morrissey, 1977).

Em relação à estabilidade do leite, considera-se que o aumento de uréia aumente a estabilidade do leite e isso pode ocorrer pela diminuição da acidez do leite (Singh & Creamer, 1992), ou pela transformação da uréia em cianato, que reage com a proteína aumentando as cargas negativas da micela dando maior força de repulsão e, por consequência, aumentando a estabilidade do leite (Sweetsur & Muir, 1981).

Entretanto, o aumento de uréia no leite determina uma diminuição do rendimento e aumento do tempo de coagulação para a produção de queijos, uma vez que a proteína verdadeira, responsável pela formação da massa, é substituída pela N-uréico (Ferreira et al., 2006).

2.2.1.5 Lactose

A lactose é sintetizada no interior do complexo de Golgi a partir de duas moléculas de glicose, sendo uma transformada em galactose, pela ação da enzima lactose sintetase. Da glicose que entra na célula secretora, 60 a 70% são destinadas à síntese de lactose, o restante é utilizado como fonte de energia para a produção dos demais componentes do leite (Fonseca e Santos, 2000).

A lactose tende a ter um efeito redutor na estabilidade do leite por poder modificar rapidamente a faixa de pH do leite, por sua decomposição e

consequente formação de ácidos (Van Boekel et al., 1989).

2.2.2 Fatores extrínsecos que afetam a estabilidade térmica do leite

Existem fatores que interferem na estabilidade térmica do leite e que não estão diretamente relacionados aos componentes do leite, apesar de, muitas vezes poderem afetar a concentração de alguns componentes, entre esses fatores pode-se citar:

2.2.2.1 Período do ano

Um dos fatores que pode interferir na estabilidade térmica do leite relacionada à época do ano, é o nível de uréia e essa sazonalidade se expressa pela variação de oferta de alimentos e, por consequência na estabilidade (Horne & Muir, 1990).

Outro fator que pode estar relacionada à época do ano é a redução da oferta de volumoso de qualidade, principalmente em regiões onde o inverno, por exemplo, é extremamente rigoroso e isso reduz o aporte de ácido cítrico que serve como fonte de síntese de citrato e, portanto, acaba reduzindo a estabilidade do leite (Silva e Almeida, 2006).

Em trabalhos realizados em diferentes regiões do Rio Grande do Sul, foram encontradas distintas épocas do ano, entretanto todas equivalem a períodos em que se impõe dificuldade de produção de volumoso de qualidade, como é o caso do final do verão na região noroeste do estado (Zanela et al., 2009), no outono na região sul do Rio Grande do Sul (Marques et al., 2007) e no outono/inverno na região de Santa Vitória do Palmar/RS (Oliveira et al., 2007).

Em períodos específicos do ano, considerando a região, ocorre um

estrangulamento na possibilidade de produção de alimentos em quantidade e qualidade necessárias para a atividade leiteira, determinando campos com baixa qualidade nutricional e principalmente desequilibrados no que diz respeito na proporção cálcio/ fósforo, o que pode interferir nos níveis desses minerais no leite e por consequência na estabilidade (Barros, 1999; Ferrari et al., 2007 e Bitencourt et al., 2000).

2.2.2.2 Tempo de lactação

Apesar de não se ter uma correlação direta e explícita a respeito da estabilidade do leite com o tempo de lactação, descreve-se que animais com estágios avançados de lactação tendem a apresentar leite instável (Rose, 1962).

Imagina-se que animais em estágios avançados de lactação apresentem uma maior concentração de SP, o que pode aumentar a formação do complexo β -Lg/ κ -CN e, dessa forma, diminuindo a estabilidade do leite (Silva e Almeida, 1999; Santos, 2004). Além disso, nas fases iniciais e finais da curva de lactação, há um aumento dos níveis de cálcio iônico, o que interfere de forma decisiva na estabilidade do leite (Barros, 2002).

2.2.2.3 Mastite

Os processos de mastites determinam uma alteração das características naturais do leite, reduzindo componentes como, lactose, caseína e gordura e, aumentando substâncias indesejadas como sais e enzimas proteolíticas (Philpot & Nikerson, 2002).

Os quadros de mastites levam a um aumento da passagem de cloreto de sódio direto do sangue para o leite, gerando um desequilíbrio salino o que vai interferir na estabilidade do leite (Tozzetti et al., 2008). A passagem

dos sais diretamente do sangue para o leite, sem o princípio osmótico, que pode ocorrer durante os quadros de mastites, pode estar relacionada as *tight junctions* (Stelwagen *et al.*, 1999). As *tight junctions* são a junção entre as células dos tecidos epiteliais, nesse caso, da glândula mamária, sendo que essa porção (*zonula occludens*) é a principal responsável pela filtração dos elementos que passam do sangue para o leite, obrigando a ocorrência dos processos de endo e exocitose (Stevenson & Keon,1998).

2.2.2.3.1 Células Somáticas

São consideradas células somáticas todas as células do organismo menos as células germinativas, sendo formadas principalmente por células de defesa que migram do sangue para a glândula mamária com o objetivo de combater qualquer tipo de agente agressor (Machado *et al.*, 2000).

Atualmente a contagem de células somáticas normal para o Brasil, de acordo com a Instrução Normativa (IN 51), fica em $7,5 \times 10^5$ cs/mL sendo que esse número deve ser reduzido para $4,0 \times 10^5$ cs/mL até o ano de 2011 (Brasil, 2002).

A contagem de células somáticas (CCS) apresenta uma correlação alta com os quadros de mastite ($r= 0,50$ a $0,96$) sendo um bom indicativo do aparecimento da patologia no rebanho (Emanuelson & Funke, 1991).

O princípio do aparecimento de células de defesa do organismo na composição do leite determina primeiro, uma menor síntese dos componentes normais, isso se explica com uma grande mudança na concentração de gordura em contagens acima de $1,0 \times 10^5$ cs/mL e na concentração de proteína em contagens acima de 5×10^5 cs/mL (Machado *et al.*, 2000); uma maior passagem dos sais do sangue para o leite, com aumento dos níveis de Ca^{++} e,

dessa forma uma alteração da estabilidade do leite (Barros et al., 1999).

Em trabalho realizado no Chile, se observou que leites que apresentavam uma alta contagem de células somáticas determinou uma redução da termo-estabilidade (Molina et al., 2001).

2.2.2.3.2 Contagem bacteriana

A contagem bacteriana total também é um meio de controle da qualidade do leite, determinada pela IN 51, sendo que atualmente é liberada uma contagem de $7,5 \times 10^5$ UFC/mL de leite e, assim como a CCS, tem seu nível máximo programado para ser reduzido em 2011, sendo a partir de então, a contagem normal de $1,0 \times 10^5$ UFC/mL (Brasil, 2002).

Elevados níveis de contagem bacteriana interferem diretamente na composição de leite, determinando um aumento da concentração de proteína e redução dos níveis de lactose (Bueno et al., 2008). Torna-se importante ressaltar que o aumento da proteína no leite com alta CBT é muito mais por grande passagem de proteínas sanguíneas e não pelo aumento de caseína (Fonseca e Santos, 2000).

Ao passo que se aumenta a contagem bacteriana no leite, se tem o aumento de enzimas proteolíticas produzidas por essas bactérias (Silva, 2004). A efetividade da ação proteolítica enzimática é espécie dependente e interfere de forma contundente na estabilidade térmica do leite, uma vez que modifica a estrutura micelar e reduz a capacidade de repulsão das micelas (Cousin & Marth, 1976).

É importante ressaltar que nem sempre se pode relacionar a contagem bacteriana com a contagem de células somáticas, uma vez que os microrganismos têm alta capacidade de reprodução, podendo ser um reflexo

de quadros de mastites ou de baixa qualidade da água utilizada para higienização de utensílios ou falhas no sistema de refrigeração do leite (Ramires et al., 2009; Wink e Thaler Neto, 2009).

2.2.2.4 Nutrição

As alterações da condição nutricional do rebanho parece ser um dos principais fatores etiológicos da instabilidade térmica do leite, sendo descrito por vários autores, sendo que se deve considerar sempre a capacidade de compensação do organismo o que pode reduzir o efeito direto dos desequilíbrios nutricionais sobre a estabilidade do leite (Walstra & Jennes, 1984).

A maior parte dos trabalhos realizados, com o objetivo de avaliar o efeito da nutrição sobre a estabilidade foi comparada com a estabilidade ao álcool e não quanto à estabilidade térmica.

Em trabalhos que avaliaram o efeito da restrição alimentar sobre a estabilidade ao álcool, observou-se que, a diminuição do aporte nutricional dos animais interferiu de forma negativa na estabilidade ao álcool e na composição do leite (Zanela et al., 2006; Fischer et al., 2006; Fruscalso 2007).

Sugere-se que os baixos níveis de glicose sérica seria o principal fator desencadeante da instabilidade do leite (Sobhani et al., 1998), o que parece ser confirmado pelos baixos níveis de lactose encontrado em trabalhos com restrição alimentar (Zanela, 2004).

Outro fator relacionado à nutrição é que dietas que levam a um menor aporte de precursores do ácido cítrico, vão determinar um menor nível de citrato produzido o que interfere de forma contundente na estabilidade do leite (Silva e Almeida, 1999).

2.2.3 Efeito do calor sobre os componentes e a estabilidade do leite

A variação do efeito da temperatura sobre a estabilidade térmica do leite se dá de acordo com a variação da temperatura, sendo que, a medida que a temperatura vai mudando, o leite vai se tornando menos ou mais estável (Silva, 2004).

Com a ação do calor, as modificações mais relevantes se dão no deslocamento do cálcio da forma solúvel para a forma coloidal, afetando o tamanho da micela da caseína e reduzindo a força de repulsão; formação do complexo β -Lg/ κ -CN; modificação da superfície micelar e redução do pH por formação de ácidos orgânicos a partir da decomposição da lactose (Walstra & Jenness, 1984).

2.3. Estabilidade ao álcool

De certa forma, existe uma confusão entre a estabilidade ao álcool e a estabilidade térmica, sendo que alguns autores inclusive trabalham com a idéia de que seja a mesma coisa ou que tenham os mesmos fatores predisponentes.

É a capacidade que o leite tem de suportar concentrações mínimas de etanol sem promover a coagulação (Horne & Parker, 1979).

Esse tipo de estabilidade tem ganhado importância a medida que o teste do álcool tem sido utilizado como forma de descartar ou aceitar o leite por parte da indústria, sendo referenciado pelo Ministério da Agricultura em concentrações mínimas de 72% v/v (Brasil, 2002).

Tem-se relatado o uso do teste do álcool para avaliar a qualidade do leite desde o início do século XX, sendo que os relatos oficiais datam de 1915

(Silva, 2004). No início, o teste do álcool era utilizado como um determinante da acidez do leite, uma vez que em situação de alteração de pH o leite coagula frente ao contato com o álcool (Barros, 2002). Todavia, deve-se considerar que em cada país e atualmente até mesmo em cada região dentro de um país, tem-se utilizado concentrações diferentes de álcool, sendo que a legislação brasileira determina que, a mínima concentração a ser utilizada é de 72% v/v de etanol para o aceite da matéria prima para o processamento na indústria (Brasil, 2002).

Baseado no anteriormente descrito, por haver apenas uma concentração mínima de álcool a ser utilizado no teste, na América do Sul se tem trabalhos de incidência de leite instável com diferentes frequências, o que muitas vezes acaba não determinando um padrão de análise.

No Chile, foi trabalhado com concentração de álcool e 75% v/v e, nessa faixa, encontrou 8,3% de incidência de LINA (Molina et al., 2001); na Argentina se trabalhou com concentração de 72% v/v e se obteve uma incidência de 33% (Negri, 2002); no Brasil, principalmente na região sul, se trabalhou com a concentração de 76% v/v – por ser a concentração utilizada pela indústria na região de estudo – e foram determinadas incidências de 55 a 58% (Zanela, 2004; Marques, 2004).

Tem-se utilizado o teste do álcool como avaliador da qualidade do leite, em diferentes países e períodos como Japão, Itália, Irã, Cuba, Uruguai, Argentina, Chile e Brasil (Marques, 2008; Oliveira et al., 2007).

2.3.1 O teste do álcool de acordo com a Instrução Normativa 51

O teste do álcool é obrigatório sua utilização no momento da coleta do leite, sendo que a legislação brasileira determina uma concentração mínima

de 72% v/v, sempre acompanhado de alizarol e, leites que precipitem na execução do teste, devem ser rejeitados (Brasil, 2002).

Esse teste tem a vantagem de ser de fácil e rápida execução e a desvantagem de ser, até certo ponto, subjetivo, sendo que ele é uma combinação de dois testes, o de capacidade de coagulação e o teste de pH por colorimetria (Tronco, 1997).

2.3.2 Fatores que interferem no teste do álcool

Assim como a estabilidade térmica, existem alguns fatores que são efetivos em sua atuação sobre o mecanismo de estabilidade ao álcool, entre os quais pode-se citar:

2.3.2.1 Concentração de etanol

Quanto maior a concentração de álcool utilizada no teste menor será a constante dielétrica da mistura o que vai determinar uma menor capacidade repulsiva da estrutura micelar o que acaba propiciando a precipitação (Negri, 2002; Mikheeva et al., 2003). A constante dielétrica interfere no grau de ionização do grupamento R dos aminoácidos e dessa forma, tende a agregar-se (Lehninger, 1995).

2.3.2.2 Acidez

A capacidade de segregação das proteínas em relação ao teste do álcool vai modificando de acordo com a variação do pH do leite, sendo que quanto mais abaixo da faixa normal (6,6 – 6,8) menor concentração de álcool é necessária para a coagulação do leite (Horne & Parker, 1981b).

A partir do efeito do pH sobre a concentração de álcool necessária para a coagulação do leite, se montou uma curva que se expressa de forma sigmoidal (figura 1) e demonstra que em pH mais baixo menor é a necessidade

de álcool para a coagulação (Horne & Muir, 1990).

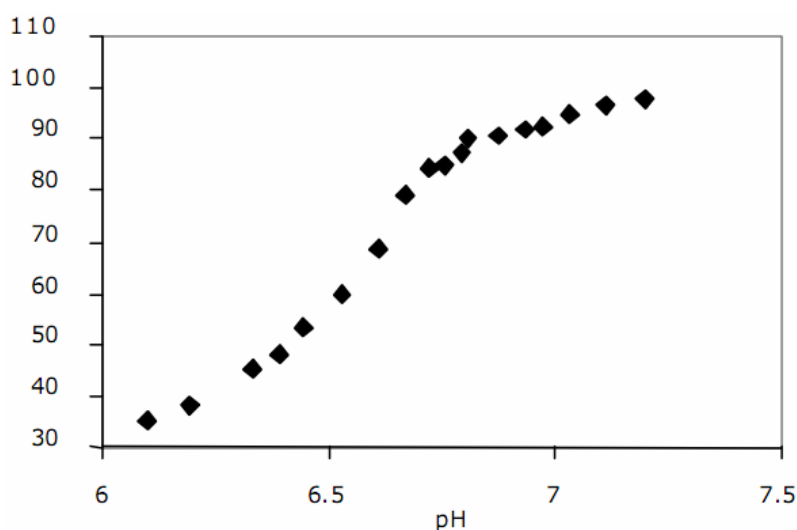


Figura 1: Curva de estabilidade do leite ao álcool em relação ao pH
Fonte: Horne & Muir, 1990.

Essa curva é formada a partir da variação dos níveis de cálcio iônico no leite, sendo que quanto maior a quantidade desse componente, menor a necessidade de álcool para obter a precipitação (Horne, 1992).

Dessa forma, obteve-se a concepção que o fator de maior interferência na estabilidade do leite frente ao álcool seria os níveis de cátions divalentes, com alta correlação com o fósforo inorgânico, por este ser um controlador dos balanços entre os sais e dessa forma da estabilidade do leite (Donnelly & Horne, 1986).

2.3.2.3 Cálcio iônico

Os níveis de cálcio iônico determinam a modificação da curva sigmóide de estabilidade do leite frente ao álcool e, alguns fatores são fundamentais para modificação desses níveis (Horne & Parker, 1983).

Os fatores nutricionais interferem de forma decisiva na estabilidade do leite ao álcool, principalmente pelo fato que desequilíbrios possibilitam alteração de pH do leite e aumento nos níveis de cálcio iônico o que desestabiliza a micela (Barros, 2006).

Em um trabalho realizado com a utilização de dietas aniônicas, obteve-se uma redução do pH do leite e se chegou a uma redução da concentração de álcool, necessária para promover a coagulação do leite (Marques et al., 2006).

Outro fator de interferência importante é o tempo de lactação que, em animais nos terços inicial e final da curva de lactação tendem a apresentar uma maior concentração de cálcio iônico no leite (Paez et al. 2006).

2.3.2.4 Temperatura

Ainda não se tem muito claro o efeito da temperatura do leite sobre a ação do álcool sobre as proteínas do leite. Isso se demonstra, por exemplo, a partir do momento que em um trabalho realizado analisando 55 amostras de leite, se obteve diferença significativa onde temperaturas mais elevadas da matéria prima determinassem maior concentração de álcool para a coagulação (Costa et al., 2004). Em contrapartida em um trabalho analisando 130 amostras de leite, não se obteve essa diferença (Machado et al., 2007).

2.4. Estabilidade térmica VS estabilidade ao álcool

Observando-se algumas discussões bibliográficas, muitas vezes se torna confuso a diferença entre estabilidade térmica e estabilidade ao álcool, sendo que alguns autores descrevem como sendo igual e/ou que uma pode descrever a outra.

De acordo com Silva (2004), a estabilidade ao álcool seria um bom parâmetro para avaliar a estabilidade ao tratamento térmico.

Essa correlação entre os dois testes foi amplamente questionada por autores que buscaram avaliar os resultados do teste do álcool com o teste de tempo de coagulação no tanque (TCT), chegando sempre a correlações

baixas, não dando segurança nessa predição (Molina et al., 2001; Negri 2002; Chavez et al., 2004).

Deve-se observar ainda que a evolução das curvas da estabilidade térmica e ao álcool em relação ao pH, se apresentam de forma distinta (figuras 2 e 3), demonstrado de certa forma, reações diferenciadas para os dois tipos de estabilidade.

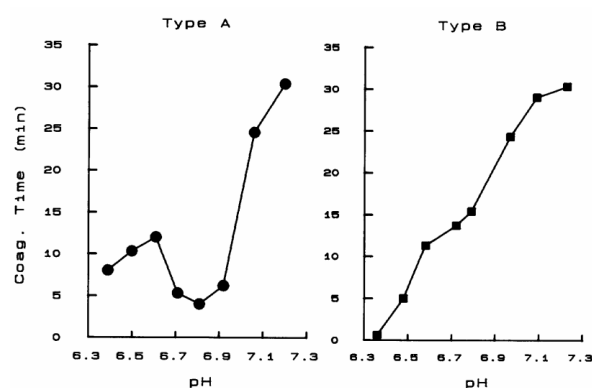


Figura 2: Curvas da estabilidade térmica do leite de acordo com o pH

Fonte: Horne & Muir. 1990

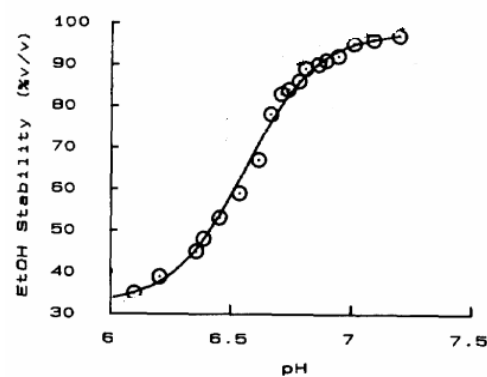


Figura 3: Curvas da estabilidade ao álcool do leite de acordo com o pH

Fonte: Horne & Muir. 1990

A diferença básica entre a estabilidade térmica e a estabilidade ao álcool se dá porque durante o processo de aquecimento ocorre um conjunto de alterações químicas que vão interferir de forma decisiva na estabilidade do leite, principalmente no que diz respeito a soro proteínas, onde ocorre a formação do complexo β -Lg/k-CN, enquanto que o pH interfere sobre a composição de cálcio nas diferentes fases, por isso uma curva sigmóide (Horne & Muir, 1990).

2.5. Testes que avaliam a estabilidade térmica

Baseado no conceito de estabilidade térmica, que seria a capacidade que o leite tem de suportar a ação da temperatura por um dado tempo (Singh & Creamer, 1992), buscou-se métodos que visem avaliar essa capacidade e, esses métodos podem ser divididos em subjetivos e objetivos:

2.5.1 Métodos subjetivos para a avaliação da estabilidade térmica

A primeira forma de avaliação da estabilidade térmica foi realizada avaliando o tempo de coagulação do leite submetido a uma temperatura de 137°C, sendo que o leite era colocado em tubos de vidros e a temperatura se obtinha a partir de vapor de xileno (Sommer & Harts, 1919).

A partir desse trabalho, foram feitas algumas variações, sendo uma delas a idealizada por Davies & White (1966), onde o leite foi colocado em tubos maiores (4mL de volume), agitados em banho de glicerina, tubos fechados com tampões de silicone e a obtenção do calor se dava por imersão em glicerina aquecida a 140°C.

Em trabalhos realizados na Argentina foi proposta uma nova variação do teste, onde se utilizou capilares menores em volume, fechado com chama e a agitação agora não era realizada nos tubos e sim no líquido que os capilares estavam submerso. O TC era o tempo transcorrido desde a submersão do capilar no banho de óleo até o momento do aparecimento do primeiro grumo (Negri, 2002; Chavez et al., 2004).

Estes métodos são considerados subjetivos porque existem vários fatores que interferem no seu resultado final, tais como a velocidade de agitação, o tempo e o número de vezes que o capilar é retirado do calor para a observação e a capacidade individual de identificar o momento da coagulação (Singh & Creamer, 1992).

2.5.2 Métodos objetivos para a avaliação da estabilidade térmica do leite

Inicialmente foi desenvolvido um método automatizado que verificava

via um sensor eletromagnético, o momento da coagulação do leite (Kneifel et al., 1987).

Posteriormente se idealizou trabalhar com um viscosímetro, onde se avaliava o tempo de queda de um êmbolo de vidro, considerando a idéia de que um dos primeiros pontos atingidos por instabilidade térmica seria a viscosidade do leite (Singh & Creamer, 1992). Novos métodos utilizando-se de viscosímetros foram avaliados, mas todos eles com o objetivo de avaliar a estabilidade do leite em pó (Negri, 2002).

Os métodos objetivos apresentam a vantagem de não necessitar um observador no momento da alteração da estabilidade, retirando do processo a subjetividade da observação visual, entretanto, não corresponde diretamente ao efeito exercido sobre o leite, no momento do processamento U.H.T. e nem são de fácil utilização para avaliar a estabilidade térmica na propriedade (Negri, 2002).

2.5.3 Modelo matemático de estimação da estabilidade térmica do leite

A partir de um conjunto de variáveis que apresentam relação direta com a estabilidade térmica do leite, se estipulou uma equação matemática que descreveria com uma boa precisão ($R^2=0,72$) o tempo de coagulação do leite, principalmente em pó, sendo essa equação descrita da seguinte forma:

$$TC_{LEP} = 44,2 + 5916 * ureia_{LCS} + 0,46 * TC_{LCS} - 129,9 * lactose_{LCS}$$

Onde, TC_{LEP} = tempo de coagulação de leite integral em pó; TC_{LCS} = tempo de coagulação do leite cru do silo (Chaves et al., 2004).

Convém ressaltar que todas as técnicas dão uma boa estimativa sobre o tempo de coagulação do leite, não necessariamente a estabilidade

térmica do leite.

2.6. Leite instável não ácido (LINA)

O leite instável não ácido é um conjunto de alterações em que a matéria prima apresenta uma acidez dentro dos padrões normais, contagens bacterianas adequadas, mas ainda assim, reagem positivamente em relação ao teste do álcool (Zanela et al., 2004; Oliveira et al., 2007).

As causas do LINA são as mais variáveis possíveis e ainda não bem determinadas e se tem demonstrado uma incidência da alteração em diferentes regiões (Zanela et al., 2009; Marques et al., 2007; Oliveira et al., 2007).

2.6.1 Efeito do LINA sobre a composição do leite

De acordo com diferentes trabalhos avaliados, observou-se que leites com instabilidade ao álcool sem apresentarem acidez evidente, apresentam variações na sua composição, principalmente no que diz respeito à concentrações de proteína e gordura, sendo importante ressaltar que os trabalhos demonstram tendências, entretanto, não uma certeza.

Em um trabalho realizado no Uruguai, foi determinada uma maior concentração de proteína bruta e gordura com uma menor concentração de lactose e sólidos totais (Barros et al., 2000).

Esses resultados não apresentaram coerência com o de outros autores que demonstraram a ocorrência de redução de proteína, lactose, sólidos totais e pouca ou nenhuma alteração nos níveis de gordura (Fruscalso, 2007; Zanela et al., 2004; Viero, 2008 e Abreu, 2008).

2.6.2 Perfil sanguíneo dos animais que apresentam leite instável não ácido (LINA)

As alterações que ocorrem no leite, na maioria das vezes refletem o

que está ocorrendo com o sangue que por sua vez descreve a situação orgânica dos animais (Peres jr., 2001).

Normalmente, em trabalhos realizados com animais que apresentam LINA, tem-se demonstrado que alteração nos níveis de uréia sérica tem sido a principal diferença para os leites normais (Fisher et al., 2006; Viero, 2008).

CAPÍTULO III

Qualidade do leite na região nordeste do RS: composição, ocorrência e etiologia do leite instável não ácido e comparação entre teste do álcool e tempo de coagulação¹

¹ Artigo científico sob as normas da Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia – Anexo 1

Qualidade do leite na região nordeste do RS: composição, ocorrência e etiologia do leite instável não ácido (LINA) e comparação entre teste do álcool e tempo de coagulação¹

Milk quality at the northern region of RS: composition, occurrence and etiology of unstable non acid milk (LINA) e the comparison between alcohol test and coagulation time

Sandro Charopen Machado², Vivian Fischer³, Maira Balbinoti Zanela⁴, Thais Schilling de Ávila⁵, Luis Eduardo Sandri⁶, Vitório Viero⁷.

¹ Trabalho financiado pelo edital Universal CNPq-2008.

² Doutorando do Programa de Zootecnia – UFRGS, professor do Curso de Medicina Veterinária – FAI/SC. charopen@gmail.com

³ Professora Doutora orientadora - UFRGS.

⁴ Professora Doutora - UFRGS.

⁵ Aluna de graduação do curso de Farmácia do Centro Universitário Feevale.

⁶ Aluno de graduação do curso de Biomedicina do Centro Universitário Feevale.

⁷ Médico Veterinário mestre – UFRGS.

RESUMO – O estudo teve o objetivo de avaliar a qualidade do leite produzido na região nordeste do RS, a ocorrência de leite instável não ácido (LINA), determinar os principais fatores que interferem na estabilidade ao álcool e térmica e a existência de correlação entre os dois métodos de avaliação. O experimento foi realizado de janeiro de 2007 a outubro de 2009, com coletas mensais do leite de 50 unidades produtoras de leite (UPL), levantamento das características dos sistemas de produção (anexo 2), características físico-químicas e microbiológicas do leite e estabilidade no teste do álcool e tempo de coagulação no tanque (TCT). O LINA foi definido como o leite com pH normal que coagula em solução alcoólica com 78% de etanol v/v. O delineamento foi o completamente casualizado em arranjo fatorial: anos (n = 3), meses (n = 12). Os resultados foram analisados através de análise de variância ou frequência, de acordo com a distribuição e natureza das variáveis respostas, considerando os efeitos de ano, mês e interação entre meses e anos, com o nível máximo de probabilidade de 0,05. As características físico-químicas do leite variaram entre os meses, porém de forma distinta conforme o ano considerado. Do total de amostras, 43,21 e 60,27% ficaram dentro dos limites recomendados pela IN51 (MAPA) para, a contagem bacteriana e de células somáticas, enquanto cerca de 90% das amostras atenderam as recomendações da IN51 em relação às características físico-químicas. A ocorrência média do LINA foi de 81%.

O TCT foi positivamente correlacionado com o teste do álcool ($r = 0,32$, $P < 0,0001$, $n = 490$). Entre os fatores testados, o TCT foi aquele que influenciou mais o teste do álcool, além do teor de lactose e acidez, enquanto o TCT foi influenciado pelo teste do álcool. As UPL com maior ocorrência de LINA apresentaram como características: menor área destinada ao leite, não realizam pré-imersão dos tetos nem CMT. A composição do leite na região colonial do RS apresenta-se adequada do ponto de vista das características químicas e físicas, com exceção da estabilidade do leite no teste do álcool e aspectos de higiene. Entretanto essas características variam conforme os meses e anos de avaliação. O teste do álcool não se apresenta com boa capacidade de predição da estabilidade térmica do leite avaliada pelo TCT.

Palavras-chave: álcool, estabilidade, qualidade, tempo de coagulação no tanque

ABSTRACT - The study aimed to evaluate the quality of milk produced in the northeast of the RS, the occurrence of unstable non-acid milk (LINA), determine the main factors that influence the thermal stability and at the alcohol test and establish the relation between the two methods. From January 2007 to October 2009, milk samples were collected monthly from 50 milk producers, to access the characteristics of those production systems, the physical-chemical and microbiological attributes of milk and verify milk stability with the alcohol test and tank coagulation time (TCT). LINA was defined as milk with normal pH that clots in alcoholic solution with up to 78% ethanol v/v. The trial was conducted according to the completely randomized design, considering the following effects: years ($n = 3$), months ($n = 12$) and their interaction. Results were submitted to analysis of variance or frequency, according to the distribution and nature of the response variables, considering the effects of year, month and interaction between months and years, with the maximum probability of 0.05. The physical-chemical properties of milk varied between months, but in different ways depending on the year. 43.21 and 60.27% of milk samples showed values within the threshold recommended by IN51 (MAP) for the bacterial count and somatic cells, while about 90% of the samples fit the recommendations of IN51 in relation to the physical and chemical attributes. The occurrence of LINA average was 81%. TCT was positively correlated with the alcohol test ($r = 0.32$, $P < 0.0001$, $n = 490$). Among the factors affecting the results of the alcohol test, TCT followed by lactose content and acidity were the most important, while the TCT test was

influenced by alcohol concentration used in the test. Farms with a greater occurrence of LINA had the following characteristics: smaller area for the milk, do not execute preventive measures against mastitis like pre immersion of teats or CMT. The composition of milk in the colonial region of the RS is considered to be adequate in terms of physical and chemical characteristics, except for the stability of milk test for alcohol and hygiene aspects. However, these characteristics vary across months and years of evaluation. The alcohol test is not a good predictor of thermal stability of milk measured as TCT.

Keywords: alcohol, stability, quality, tank coagulation time

Introdução

Com a demanda por produtos submetidos à temperatura mais elevadas como leite UHT, leite condensado e leite em pó, surge uma problemática que é a estabilidade do leite, por sua vez definida como a sua capacidade de suportar altas temperaturas sem coagular (Singh, 2004). A estabilidade é um fenômeno multifatorial, influenciada por diversos fatores como a acidez do leite, composição da micela de caseína, concentração de cálcio iônico, além do período de lactação, época do ano, entre outros (Negri, 2002).

As indústrias brasileiras utilizam o teste do álcool para a determinação da estabilidade do leite e descarte quando alterado por acidez excessiva. Todavia, em virtude da necessidade de matéria prima com maior estabilidade térmica para suportar os processos industriais, as indústrias utilizam concentrações de álcool acima do mínimo recomendado pela Instrução Normativa nº 51 (Brasil, 2002), de 72% v/v. Essa prática tem sido contestada por pesquisadores, como Negri (2002) e Molina et al. (2001), os quais reportaram que a estabilidade no teste do álcool e térmica são dois fenômenos distintos que apresentam fatores de interferência correlacionados. Segundo esses autores, há o risco de se aumentar o número de amostras rejeitadas pela indústria à medida que a concentração de etanol na solução alcoólica aumenta.

Observa-se a ocorrência de um fenômeno chamado de leite instável não ácido

(LINA), que é o leite que se apresenta dentro dos padrões determinados normais de acidez de acordo com a legislação, entretanto é instável ao teste do álcool nos padrões determinados pela indústria (Zanela et al., 2006a). A incidência de LINA no Rio Grande do Sul é elevada, embora haja variação entre os meses e anos de avaliação (Marques et al., 2007; Zanela et al., 2009). Existe interesse por parte da indústria em verificar os fatores causais da instabilidade do leite, as mudanças na composição do leite associadas e a prevalência do problema nos diversos sistemas de produção.

O estudo teve o objetivo de avaliar a qualidade do leite, a ocorrência de leite instável não ácido na região nordeste do estado do Rio Grande do Sul, determinar os principais fatores que interferem na estabilidade ao álcool e térmica, bem como determinar a relação entre os dois métodos de estimativa da estabilidade térmica do leite.

Material e Métodos

O experimento foi realizado entre janeiro de 2007 a outubro de 2009 na região serrana do nordeste do estado do Rio Grande do Sul, avaliando, mensalmente, a qualidade do leite e aspectos do sistema de produção de 50 produtores rurais que comercializam leite com uma indústria laticinista da região. Esses produtores foram selecionados pela própria empresa e estão localizadas em diferentes municípios, entretanto sempre fazendo parte da região nordeste da serra gaúcha.

A partir da seleção dos produtores participantes, procedeu-se uma entrevista (apêndice 1) onde se buscou caracterizar as propriedades, de acordo com o tamanho, tipo de mão de obra, sistema de ordenha, número de animais em lactação, tempo médio de lactação, número de lactações, aspectos básicos da alimentação que foi utilizada para o rebanho durante o período de estudo.

As amostras de leite foram coletadas mensalmente do reservatório de leite em cada UPL, e foram divididas em duas alíquotas, uma delas foi destinada para o

laboratório do Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros (SARLE) na Universidade de Passo Fundo (UPF), onde foram determinadas a contagem bacteriana total (CBT) pelo método de contagem eletrônica por citometria de fluxo, contagem de células somáticas (CCS) e composição química (lactose, proteína, gordura e sólidos totais) pelo método de espectrofotometria por radiação infravermelha (Fonseca e Santos, 2000). A segunda alíquota foi encaminhada ao laboratório de Bromatologia do Centro Universitário Feevale onde se realizaram as seguintes análises:

1. Acidez titulável: Utilizou-se titulação com solução de hidróxido de sódio, a técnica de Dornic (Tronco, 1997);
2. Acidez por potenciometria (pH): A determinação do potencial hidrogeniônico foi feita com um potenciômetro da Hanna[®] (Órdoñez et al., 2005);
3. Fervura: 3 ml de leite foram colocados em uma proveta de vidro e com um Bico de Bunsen se elevava a temperatura até o ponto de fervura, sendo repetida essa temperatura três vezes por amostra, após se observava formação de grumos (Silva, 1997);
4. Estabilidade ao etanol: esse teste foi feito misturando 2 mL de leite com 2 mL de solução aquosa com concentrações de etanol (Tronco, 1997). Nesse experimento se utilizaram concentrações de 68 a 80% v/v em intervalos de duas unidades percentuais. As amostras que não coagularam em 80% de etanol na mistura foram consideradas estáveis em 81% v/v.
5. Tempo de coagulação no tanque (TCT): no período entre novembro de 2008 e outubro de 2009, o TCT de cada amostra foi avaliado com a imersão em glicerina aquecida e mantida a 145 °C, de um capilar de vidro com 120 mm de comprimento, 0,15mm de diâmetro externo e 0,08mm de diâmetro interno, preenchido com leite e fechado nas duas pontas. Manteve-se um espaço médio de 1cm entre a amostra e a

extremidade. O TCT foi o tempo necessário para a detecção visual de grumos dentro do capilar (Negri, 2002).

Adotou-se o delineamento completamente casualizado em arranjo fatorial. O modelo estatístico geral usado foi: $Y_{ijk} = m + A_i + M_j + AM_{ij} + E_{ijk}$, onde: Y_{ijk} corresponde às observações realizadas na k-ésimo propriedade no j-ésimo mês do i-ésimo ano, A_i corresponde ao i-ésimo ano, M_j corresponde ao j-ésimo mês, AM_{ij} corresponde à interação entre meses e anos e E_{ijk} corresponde ao erro experimental. As variáveis de natureza contínua e distribuição normal foram submetidas à análise de variância, considerando os efeitos de ano, meses e interação entre meses e anos, utilizando o procedimento GLM do SAS (2001). As propriedades foram consideradas as unidades experimentais. As médias foram separadas pelo teste DMS de Fisher e o nível máximo de probabilidade adotado foi de 0,05 (SAS, 2001).

A avaliação da frequência do leite instável não ácido (LINA = precipitação do leite no teste do álcool em solução alcoólica com 78% de etanol ou menos), com distribuição binomial (ausência ou presença) foi realizada através do procedimento Genmod do SAS (2001). Foram realizadas análises complementares descritivas, através do procedimento UNIVARIATE e FREQ com cálculo da média, moda, mediana, valores máximos e mínimos e coeficiente de variação e análise de frequências com o teste do χ^2 . Foi avaliada a correlação linear entre variáveis através do procedimento CORR coeficiente de Spearman (SAS, 2001). As variáveis, contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS) foram transformadas com a aplicação da função logaritmo para normalizar a sua distribuição e homogeneizar a variância. Porém, para facilitar a sua interpretação, são usados os valores não transformados na tabela.

Resultados e Discussão

Baseado em características inerentes à região de estudo, como uma forte

influência de colonização alemã e italiana, além de um relevo fortemente ondulado, obteve-se a seguinte caracterização das propriedades (tabela 1).

Tabela 1- Caracterização das Unidades de Produção de Leite (UPL) da região de estudo

Caracterização das UPL	Frequência (%)
Mão de obra familiar	91,29
Escolaridade – 1° grau	78,37
Área de produção leiteira até 5ha	94,38
Tempo médio de lactação \geq a 8 meses	81,00
Número de lactações \leq 8	99,17
Ordenha mecânica	75,00
Usa pré- <i>dipping</i>	11,80
Usa pós- <i>dipping</i>	74,16
Usa caneco fundo preto	46,63
Usa CMT	44,10
Silagem de milho	96,35
Pastagem de inverno e/ou verão ¹	68,82
Feno	5,34
Concentrado ²	82,02

1. Normalmente aveia e milheto, respectivamente; 2. Produzida pela indústria beneficiadora do leite da região

Observa-se o uso de mão de obra familiar o que é bem característico da região, sendo que a maior parte dos responsáveis pelas propriedades apresenta baixo grau de escolaridade. Esse pode ser um dos fatores de interferência na implantação de técnicas para a melhoria da qualidade do leite, além de dificultar o entendimento do efeito dos problemas encontrados no sistema de produção sobre o valor recebido pelo seu produto. As propriedades, em sua imensa maioria são de pequeno porte, o que leva a dificuldades de produção, tanto no que diz respeito à disponibilidade de área para produção de alimentos, bem como de manejo dos animais. No Brasil e, principalmente, no Rio Grande do Sul, a produção de leite se dá em pequenas extensões de terra (Brasil, 2006), todavia, nessa região essa característica é mais evidente, por ser uma região serrana, de relevo dobrado e com grandes áreas de matas nativas, além disso, a maioria das propriedades apresenta mais de uma atividade produtiva, o que acaba dividindo o espaço existente dentro da UPL.

Os animais das propriedades apresentaram um tempo médio de lactação bastante alto, durante o período do experimento. Isso se deve ao fato de que a maioria dos produtores não observa o tempo máximo de 305 dias de lactação no ano, deixando

curtos tempos de período seco ou, em alguns casos, nem ocorre esse período, juntando uma lactação à outra subsequente. Quanto ao número de lactações, observou-se que os animais se encontravam dentro de uma faixa adequada de até oito lactações. Esse fato tem importância uma vez que animais em estágios avançados de lactação apresentam maior CCS e por consequência alterações da composição leite (Cunha et al., 2008).

Observa-se pouca utilização de procedimentos que visam à redução de casos de mastites dentro da propriedade, como é o caso de pré e pós *dipping*, caneco de fundo preto e CMT. É importante ressaltar que apesar de se descrever o uso, não se tem a idéia real da frequência com que são realizados esses procedimentos, uma vez que o uso esporádico teria pouco efeito no controle de patologias, esse resultado coincide com os encontrados por Wink e Thaler Neto (2009), principalmente no que diz respeito a pré e pós *dipping*.

A alimentação dos animais é baseada no uso de silagem de milho, isso se deve ao pequeno porte das propriedades, sendo essa a principal fonte de volumoso para os animais. O uso de feno é esporádico em algumas propriedades e depende da época do ano e disponibilidade de pastagens e silagem. A maioria das propriedades utiliza pastagens de inverno e/ou verão, normalmente aveia e milheto, respectivamente. O concentrado utilizado é produzido pela indústria captadora do leite e é a principal fonte de proteína na dieta dos animais, sendo importante ressaltar que a maioria dos produtores entrevistados não admite utilizar concentrados com menos de 22% de PB em seus rebanhos. Torna-se importante ressaltar que não foram aferidas as quantidades e a composição da alimentação que era ofertada aos rebanhos durante os períodos do experimento e que essa regularidade da qualidade da dieta está vinculada à característica da região de produzir silagem para todo o ano de produção.

O padrão de mão de obra familiar com escolaridade básica coincide com o

encontrado em trabalho realizado em Santa Catarina, demonstrando inclusive, desconhecimento por parte do produtor, da IN 51 (Wink & Thaler Neto, 2009). Rebanhos com animais em final de lactação, como os encontrados nesse estudo, têm mais problemas com estabilidade ao álcool. Este processo pode estar relacionado ao desequilíbrio salino que ocorre nessa fase da curva de lactação (Negri, 2002; Silva, 2004; Santos, 2004). O avanço do estágio de lactação leva a uma redução do tecido mamário e da vascularização o que pode contribuir para o desequilíbrio salino e síntese de componentes, a redução do tecido do alvéolo mamário, diminui a reabsorção de cloreto de sódio, o que determina um aumento desse componente no leite (Vetharanim et al. 2003; González, 2001).

O pequeno percentual de uso do pré e pós-*dipping* tem sido demonstrado em outros trabalhos realizados no Paraná e Santa Catarina (Fariña et al., 2009; Wink & Thaler Neto, 2009). O uso de mecanismos simples como é o caso do pré-*dipping* tem um efeito considerável sobre redução da contagem total bacteriana (Vallin et al., 2009).

Em relação ao uso de caneca fundo preto, os dados encontrados são bem superiores aos de Monteiro et al. (2007), ainda assim, considera-se baixo o uso desse mecanismo na detecção e controle de mastites. O uso de caneca de fundo preto é uma boa forma de monitoramento de casos de mastites dentro da propriedade (Fonseca & Santos, 2000). O uso do CMT é uma boa forma de diagnóstico indireto de mastite sub-clínica, além de apresentar uma relação direta com os índices de células somáticas (Shitandi & Kihumbu, 2004).

Os procedimentos de imersão dos tetos pré e pós ordenha tem o objetivo de reduzir os casos de mastite, tanto as de característica ambiental, quanto as de origem contagiosa (Rosa et al., 2009; Silva, 2003), o que pode melhorar a qualidade do leite, tanto do ponto de vista de composição quanto de estabilidade, uma vez que quadros

infecciosos levam à redução da lactose, gordura e caseína, por diminuição de síntese e um aumento de proteínas totais, cloro, sódio e potássio (Müller, 2002).

Em estudo realizado na região de Pelotas/RS, observaram-se diferentes modelos alimentares de acordo com o grau de especialização dos produtores. Aqueles mais especializados apresentaram uma maior regularidade na dieta dos rebanhos (Martins et al., 2007). A disponibilidade e a qualidade da dieta afetaram a composição química do leite e a ocorrência de mastites o que, por consequência leva a uma alteração da qualidade físico-química do leite (González et al., 2004) e uma maior ocorrência de leite instável (Zanela et al., 2006b).

De modo geral, a qualidade do leite produzido na região nordeste do RS apresenta adequada composição química, entretanto observam-se alguns problemas em relação a alguns aspectos físicos e sanitários (Tabela 2).

Tabela 2- Análise descritiva das características físico-químicas e sanitárias do leite produzido por 50 produtores na região nordeste do RS

Variável	Nº	Média	Mediana	Moda	Int 25-75%	CV
pH	1583	6,75	6,8	6,8	6,7-6,8	1,24
Acidez titulável (°D)	1583	15,85	16	15	15-17	8,55
Álcool (% v/v)	1700	74,75	76	78	72-78	5,57
TCT (min)	600	5,04	4,42	3,45	3,25-6,11	56,22
CBT (x1000)	1615	2244,1	998	345	369-2465	139,8
CCS (x1000)	1621	766,4	618	456	380-987	76,07
Lactose (%)	1621	4,35	4,38	4,45	4,26-4,46	4,23
Proteína (%)	1621	3,10	3,09	3,01	2,99-3,21	6,16
Gordura (%)	1621	3,85	3,74	3,78	3,56-3,94	23,18
Sólidos totais (%)	1621	12,31	12,25	12,45	11,93-12,58	7,21
Tempo lactação (meses)	356	7,19	8	8	6-8	28,61
Nº lact. Do rebanho	356	5,81	6	6	4-6	23,92

Observa-se que tanto os valores médios de pH como a acidez titulável se apresentaram dentro da faixa considerada normal, tendo pouca variação. Em relação à concentração de etanol necessária para induzir a coagulação, observa-se que a maioria das amostras analisadas ficou acima do mínimo imposto pela IN 51 que é de 72% v/v. Entretanto, observa-se também que poucas amostras alcançaram a concentração de

álcool de 78% v/v, sendo essa a concentração que a indústria utiliza no momento da coleta do leite na propriedade. Essa diferença das proporções de álcool é permitida pela legislação e a indústria a utiliza com a idéia de que ao aumentar a concentração de álcool no teste, consegue aferir com maior segurança, a capacidade do leite de suportar o tratamento térmico.

O TCT apresentou valores médios baixos, mas elevado coeficiente de variação principalmente se comparado aos trabalhos de Negri (2002) que apresentou tempos superiores a 20 minutos e, Chavez et al., (2004) com tempos acima de 10 minutos. leite. Quanto à contagem bacteriana, observou-se que em média, 60% das fazendas apresentam valores elevados, acima do máximo permitido pela In 51 (Brasil, 2001). O que pode estar relacionada com falhas nos processos de higiene de ordenha, no resfriamento (mau funcionamento e/ou dimensionamento dos resfriadores) ou no sistema de coleta e transporte das amostras a serem analisadas. Ressalta-se ainda que os padrões de contagem bacteriana serão mais rigorosos a partir de 2011 (<100.000 UFC/mL), o que torna os dados encontrados nesse item, ainda mais preocupantes, uma vez que muitas indústrias usam esse item como fator de inferência para o pagamento do litro do leite.

O valor médio geral da CCS se apresentou próximo do valor máximo preconizado pela IN 51 até 2011 quando o limite passará de 750.000 para 400.000 cs/mL. Ao se fazer uma análise conjunta de CBT e CCS, os níveis mais baixos encontrados de células somáticas, indicam maiores problemas com o sistema de ordenha, frio e transporte e menos problemas sanitários com os animais.

Em relação à composição química do leite, observa-se que, em média, os valores ficaram dentro do padrão determinado pela IN 51, com destaque para a maior variação no teor de gordura do leite. Os níveis de lactose não são referendados pela IN 51, apesar

disso, os valores são baixos e são semelhantes aos encontrados por Fruscalso, (2007); Viero (2008); Zanela et al.(2006a). A importância desses dados está na utilização, por parte de muitas indústrias, desses itens acrescidos de CCS e CBT, para a formulação do preço a ser pago ao produtor.

Em relação ao tempo de lactação dos animais, observa-se que a maior parte dos animais se encontra no terço final da lactação. Quanto ao número de lactações, a maioria dos rebanhos está dentro de uma normalidade, não sendo animais velhos para a produção leiteira.

Observando os valores percentuais das principais variáveis estudadas, verificam-se alguns pontos importantes que deve ser discutidos, quando se compara com a IN 51, conforme pode ser visto na tabela 3.

Tabela 3- Percentual de ocorrência dos valores determinados normais para lactose, proteína, gordura e sólidos totais em amostra de leite de tanque da região serrana do RS nos anos de 2007, 2008 e 2009.

Componente	Valores percentuais em cada categoria	
pH ¹	< 6,6 – 6,8 13,33%	> 6,6 – 6,8 0,06%
Acidez titulável (°D) ¹	< 14 – 18 0,13%	> 14 – 18 0,06%
Álcool (% v/v) ¹	≤72 34,37%	>72 65,63%
Álcool (% v/v) ²	≤78 81,17%	>78 18,83%
CBT (UFC/mL x 10 ⁻³) ¹	≤750.000 43,21%	>750.000 56,79%
CCS (CS/mL x 10 ⁻³) ¹	≤750.000 60,27%	>750.000 39,73%
Lactose ³	< 4,3 30,13%	≥ 4,3 69,87%
Proteína ¹	< 2,9 9,92%	≥ 2,9 90,08%
Gordura ¹	< 3,0 2,15%	≥ 3,0 97,85%
Sólidos totais ¹	< 11,3 4,11%	≥ 11,3 95,89%

1- Valor de referência determinada pela IN51 do Ministério da agricultura (Brasil, 2002);

2- Valor de referência utilizado pela indústria beneficiadora de leite da região do estudo;

3- Sem valor de referência.

O pH é uma variável de fácil mensuração e valores baixos (< 5,4) ou altos (> 6,9) servem para constar a ocorrência, respectivamente, de proliferação microbiana, em

especial dos mesófilos com a conseqüente acidificação do leite e mastite. Além disto, mesmo variações dentro da faixa normal, ou seja, entre 6,6 e 6,8, afetam negativamente a estabilidade do leite, primeiro causando a dissociação da κ -caseína. À medida que aumenta o pH, a concentração de cálcio iônico diminui e as micelas tornam-se mais estáveis. Ao mesmo tempo, ocorre a polimerização e defosforilação das proteínas, tornando as caseínas menos estáveis. Assim, menores concentrações de cálcio podem induzir a precipitação micelar (Darling, 1980). Quando o pH chega a 7,0, há uma redução dos níveis de cálcio iônico, o que aumenta a estabilidade do leite, decrescendo novamente a partir da passagem de Na^+ e Cl^- (Singh, 2004; Horne & Muir, 1990). Essa passagem de Na^+ e Cl^- para o leite se dá normalmente em leites mastíticos pela redução dos tecidos que fazem a reabsorção desses elementos no alvéolo mamário (Vetharanim et al. 2003; González, 2001).

Embora a maioria das amostras (cerca de 85%) apresentasse pH dentro da faixa de variação e 98% apresentasse acidez titulável dentro da faixa aceitável, cerca de 1/3 das amostras foi instável no teste do álcool com 72% de etanol e 81% foi instável no teste do álcool com 78% de etanol, que é a concentração usada pelas indústrias atualmente. Portanto, o problema maior de estabilidade não está relacionado à acidez fora dos padrões. A adição do álcool determina uma diminuição da constante dielétrica alterando a força eletrostática de repulsão da micela de caseína, dessa forma, quanto mais concentrado for o álcool maior é o efeito sobre a molécula de proteína (Mikheeva et al, 2003). Os resultados positivos no teste do álcool provocariam um descarte de grande parte do leite, caso as recomendações da IN 51 fossem atendidas. Por outro lado, o maior desafio provocado pelo aumento da concentração de etanol na solução do teste pode ter gerado resultados falso positivo, ou seja, sem relação com a estabilidade térmica.

Na região de Pelotas/RS utilizando uma concentração de etanol de 76% v/v, obteve-se um índice de LINA de 58% (Marques et al., 2007) e, em Santa Vitória do Palmar/RS com concentração de 70% v/v chegou-se a uma incidência de 40% (Oliveira et al., 2002). A diferença entre as incidências de LINA dos trabalhos realizados na região sul e a deste experimento, se devem parcialmente às distintas concentrações de etanol usadas pelas indústrias. Entre os fatores que afetam o teste do álcool citam-se: pH, teores de cátions divalentes, equilíbrio salino, presença de ânions capazes de seqüestrar o excesso de cátions: citrato e polifosfatos, concentração de etanol na mistura (Chavez et al., 2004).

O TCT apresentou um coeficiente de variação alto e obtiveram-se tempos ao se compararem com aqueles encontrados em trabalhos da Argentina: 21,36 minutos (Negri, 2002), 10 – 40 minutos (Chavez et al., 2001) e 9,14 minutos (Paez et al., 2006). Entretanto, os tempos encontrados ficaram bem acima do trabalho realizado no Chile, que ficou em torno de 63,38 segundos (Molina et al., 2001). Essa diferença no TCT pode estar relacionada ao tipo de capilar utilizado nos experimentos, uma vez que até mesmo a qualidade do vidro utilizado pode interferir no resultado final (Davies & Whithe, 1966). Outro fato que pode interferir no resultado desse teste é a subjetividade, principalmente por dependerem da capacidade de observação do indivíduo (Singh, 2004).

A alta CBT pode estar relacionada não só a problemas com animais como é o caso das mastites, mas também à qualidade microbiológica da água que é utilizada para a limpeza de equipamentos e utensílios, bem como ineficiência dos detergentes utilizados para higienização (Ramires et al., 2009; Wink e Thaler Neto, 2009).

Os microrganismos podem interferir sobre a qualidade do leite, de forma direta com o consumo de substrato para o seu metabolismo normal, como é o caso da lactose

(Tortora et al., 2000), ou de forma indireta, pela liberação de enzimas proteolíticas que vão alterar a estrutura da micela expondo porções hidrofóbicas, diminuindo a força de repulsão da micela (Cousin & Marth, 1976).

A CCS é considerada um bom indicativo para a avaliação da mastite na propriedade, ressaltando que CCS superior a 800.000 cs/mL de leite em animal individual, corresponderia a um CMT duas cruces (Kivaria et al., 2007; Barbosa et al., 2002). Um quadro de mastite pode alterar a composição do leite, causando, muitas vezes, um aumento da proteína total do mesmo, sem que isso se reflita em melhoria da qualidade da matéria prima, uma vez que há um decréscimo da proporção de caseína e aumento do soro proteínas, que passam do sangue para o leite pelo epitélio celular da glândula mamária e também de aumento da concentração de gordura, que normalmente está relacionada ao efeito da proporção pela diminuição da produção em volume de leite (Zafalon et al., 2008; Cunha et al., 2008). Ainda há redução dos níveis de lactose, contraposto por um aumento da concentração de sódio, potássio e cloro em leites com elevada CCS (Ogola et al., 2007). Além do efeito da elevada CCS sobre a composição do leite, há efeito sobre o tempo de coagulação no momento da produção de queijos, diminuindo dessa forma, o rendimento dos mesmos (Auldist & Hubble, 1998).

Valores baixos de lactose podem estar relacionados com uma elevada CBT, pois as bactérias utilizam esse nutriente como substrato (Bueno et al., 2008). Além disso há ainda outras duas possibilidades para a redução de lactose, uma seria uma redução da síntese desse carboidrato e a outra seria por uma passagem da lactose do leite para o sangue, sendo que as duas situações apresentam relação direta com altas CCS (Fonseca & Santos, 2000). Considerando os demais nutrientes e sólidos totais, a variação pode estar relacionada à raça animal utilizada e principalmente à nutrição do rebanho (Zanela et al., 2006b).

O elevado tempo de lactação pode ser um dos fatores de interferência na composição do leite, pois pode haver uma maior passagem de proteínas plasmáticas para o leite ou diminuição da produção de leite, bem como na presença de células somáticas por destruição do tecido glandular (González, et al., 2001; Barbosa et al., 2008 e Fruscalso, 2007).

Avaliando a incidência LINA na região de estudo durante os anos de 2007, 2008 e 2009, observa-se que de acordo com a figura 1, os meses que mais apresentaram o fenômeno foram o período de abril e maio, sendo que o ano de 2008 apresentou elevação dos números de casos também no mês de novembro. Esse resultado coincide com o encontrado por Marques et al. (2007), em trabalho realizado na região sul do Rio Grande do Sul. Entretanto, Zanela (2006a) constatou que, na região noroeste do Rio Grande do Sul, a incidência do LINA é maior nos meses de verão. A incidência de LINA nesse período do ano pode estar relacionada à deficiência de oferta de alimentos de qualidade, principalmente considerando-se que o outono normalmente é precedido de baixas precipitações pluviométricas (Silva et al., 2001).

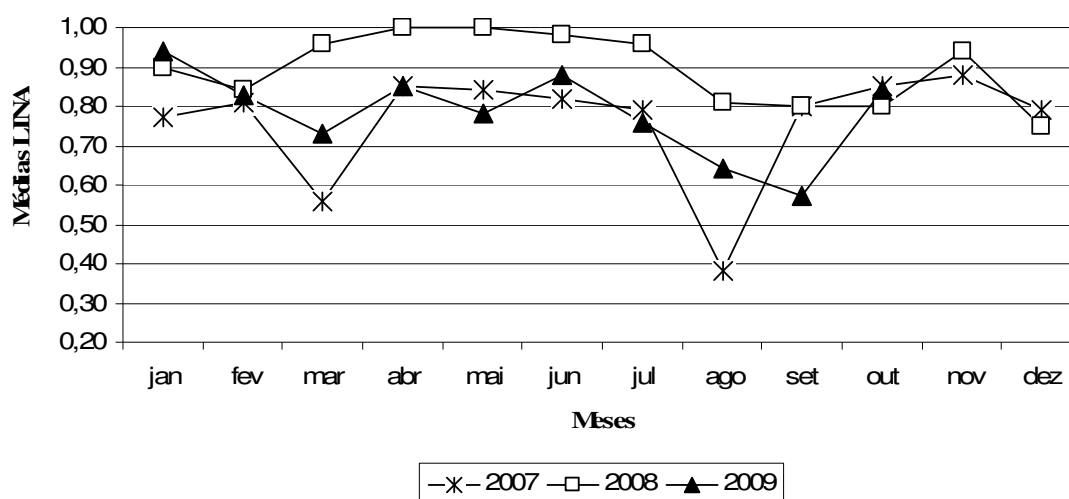


Figura 1- Distribuição das frequências de LINA (78% etanol v/v) durante os meses, nos anos de 2007, 2008 e 2009 na região nordeste do RS

Observa-se ainda que entre os anos, 2008 foi o ano que apresentou a maior incidência de LINA. Esta persistência no ano de 2008 pode estar relacionada à

ocorrência de “*La niña*” com precipitações pluviométricas abaixo do normal (Silva et al., 2001), principalmente nos períodos de primavera e verão, o que pode dificultar a produção e a qualidade dos alimentos ofertados aos animais.

As alterações nutricionais podem levar a ocorrência de leite instável, pela deficiência de precursores de citrato, como é o caso do ácido cítrico, por exemplo (Silva e Almeida, 1999; Veloso, 1998), entre outros fatores como o desequilíbrio mineral e o baixo aporte energético (Barros, 2000).

Já em relação à concentração de álcool necessária para a coagulação do leite, se observa que as médias ficaram, em todos os períodos, acima de 72% ou seja aquela preconizado pela IN 51 Brasil (2002), entretanto abaixo da concentração de 78% utilizada pela indústria na região (Figura 2).

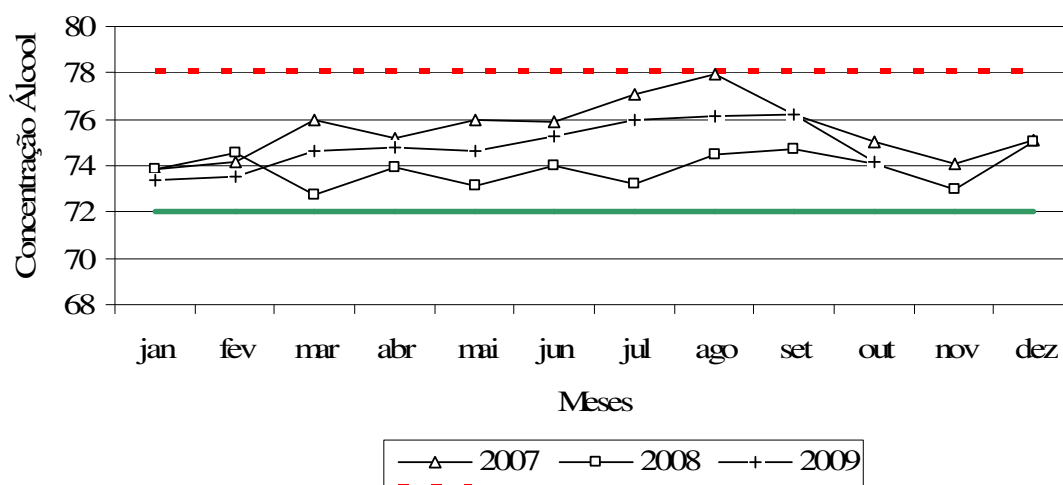


Figura 2- Concentração média de etanol na solução alcoólica (% v/v) necessária para a coagulação do leite coletado de 50 produtores na região nordeste do RS, nos meses de 2007, 2008 e 2009

Baseado no exposto na figura 2 cabe discutir a discrepância existente entre o valor determinado pela IN 51 e o utilizado pela indústria. Como o setor captador do leite utiliza parâmetros mais rigorosos que o da legislação, observa-se que a maioria das amostras que estaria apta à industrialização, pode ser descartada pela indústria, por essa não acreditar que a matéria prima suporte o tratamento térmico imposto pelo U.H.T.

Isso faz com que muitos produtores possam ter o seu produto descartado sem que haja uma real necessidade. Mesmo que nos testes feitos pelo transportador se utilize de álcool mais alizarol, no momento da análise não se leva em conta a coloração e sim a reação que ocorre que pode ser exclusivamente o efeito da concentração do álcool sobre a proteína do leite. Além do exposto, deve-se considerar ainda, que o transportador é o responsável pela análise do leite na propriedade, o que pode ter interferência na leitura e diagnóstico face ao tempo para o transporte, a luminosidade uma vez que muitas análises são realizadas à noite e com péssima iluminação e, ainda pela pequena prática laboratorial de quem realiza a análise. Deve-se ainda levar em conta que o transportador recebe por litro de leite transportado, o que determinaria prejuízo para o mesmo.

Observa-se que a acidez apresentou correlação baixa à moderada tanto com o álcool quanto com o TCT, ou seja, quanto mais ácida estivesse a amostra, menor a concentração de álcool e menor tempo de aquecimento do leite para a formação de grumos. Esse processo está vinculado a uma alteração do equilíbrio salino que ocorre no leite por efeito da acidez (Horne & Muir, 1990).

Tabela 4- Análise da correlação entre diferentes fatores com a concentração de álcool e o tempo de coagulação no tanque (TCT) em leite, nos anos de 2007, 2008 e 2009.

Variável	Período	r		P>T		N	
		Álcool	TCT	Álcool	TCT	Álcool	TCT
pH	2007	0,30	ND	0,0001	ND	577	0
	2008	0,21	NS	0,0001	NS	516	48
	2009	0,35	0,20	0,0001	0,0001	490	490
°Dornic	2007	-0,19	ND	0,0001	ND	577	0
	2008	-0,19	NS	0,0001	NS	516	48
	2009	-0,34	-0,21	0,0001	0,0001	490	490
CBT	2007	-0,25	ND	0,0001	ND	572	0
	2008	-0,21	NS	0,0001	NS	507	48
	2009	-0,17	-0,17	0,0001	0,0001	490	490
CCS	2007	-0,11	ND	0,0056	ND	577	0
	2008	NS	NS	NS	NS	507	48
	2009	-0,11	-0,15	0,0124	0,0006	490	490
Lactose	2007	0,32	ND	0,0001	ND	577	0
	2008	0,26	NS	0,0001	NS	516	48
	2009	0,41	NS	0,0001	NS	490	490

TCT: Tempo de coagulação no tanque; CBT: Contagem bacteriana total; CCS: contagem de células somáticas; NS: não significativo; ND: não determinado.

A CBT e CCS apresentaram correlação negativa tanto com álcool quanto com o TCT. Isso pode ser resultado do efeito da ação bacteriana sobre a lactose gerando ácidos, acidificando o meio e gerando um desequilíbrio iônico, principalmente cálcio ou, no caso da CCS, por aumento da permeabilidade das junções epiteliais do alvéolo mamário, o que aumenta a passagem de componentes desestabilizantes do sangue para o leite, como é o caso do sódio, cloro e fósforo.

A lactose se correlacionou com o álcool, mas não com o TCT. Essa relação com o álcool pode se explicar conjuntamente com a elevada contagem bacteriana e formação de ácidos, que pode ser o suficiente para a desestabilização do leite frente ao álcool, mas ainda com pouca interferência frente ao calor.

O álcool apresentou uma correlação positiva moderada com o TCT ($r=0,32$, $P>T=0,0001$, $n=490$). Isso demonstra que até certo ponto os dois fenômenos se relacionam parcialmente, mas não pode prever o que vai ocorrer no processamento térmico a partir do teste do álcool, exceto nos casos de leite ácido, mastítico ou colostrado. Dessa forma, em leites com acidez dentro da faixa normal, deveria se utilizar o teste do álcool muito mais como uma forma de destinar a matéria prima dentro da indústria, do que para descartar o leite a ser recebido pela indústria. Em contrapartida, como o TCT se apresenta com pequena possibilidade prática para utilização por parte da indústria e também não é um fiel estimador da estabilidade térmica em condições experimentais, especialmente necessárias para a seleção de matéria prima para os processos UHT, produção de leite em pó e leite evaporado, tornando-se difícil utilizá-lo como método analítico para o aceite ou descarte do leite no momento da coleta.

O pH é um dos principais fatores que interferem tanto na estabilidade ao álcool como na estabilidade térmica (Chavez et al., 2004 e Negri, 2002). Isso explica a correlação entre pH e medidas da acidez, porque uma mudança do pH em direção ao

ácido compromete a estabilidade iônica do leite, através da liberação de prótons (Silva, 2004). Isso ocorre porque o decréscimo do pH aumenta a dissociação dos fosfatos, aumentando a quantidade de Ca^{2+} no leite (Walstra et al., 1999), sendo esse um dos principais fatores determinante da instabilidade do leite frente ao álcool (Barros, 1999), uma vez que a saída do cálcio da estrutura micelar leva à desorganização da mesma, expondo a porção hidrofóbica da caseína o que predispõe a agregação (Philippe et al., 2003).

A correlação negativa entre CBT e teste do álcool e TCT pode estar vinculada à ação microbiana de metabolização da lactose em ácido lático, reduzindo o pH, com a consequente desestabilização iônica da micela de caseína (Órdoñez et al., 2005). Outro aspecto a considerar é que, em casos de mastites, há uma movimentação de componentes do sangue, tais como sódio, cloro e potássio, diretamente para o leite, aumentando o efeito negativo sobre a estabilidade do leite (Walstra & Jennes, 1984). A relação negativa entre CCS com o teste do álcool e TCT pode estar relacionada com enfraquecimento da barreira epitelial da glândula mamária, e modificação das concentrações de Na, Cl, K, lactose e citrato (Stelwagem et al., 2000).

A correlação positiva do teor de lactose com o teste do álcool coincide com o encontrado por Marques et al. (2007); Fruscalso (2007); Viero (2008); Fischer et al. (2006), que encontraram teores menores de lactose em leite que apresentava instabilidade ao álcool. Estes resultados podem estar relacionados ao elevado número de contagem bacteriana que utilizam esse componente com substrato para processos fermentativos (Bueno et al., 2008) ou, pode ocorrer uma diminuição da síntese desse carboidrato pela célula secretora devido aos danos causados pelos microorganismos (Fonseca & Santos, 2000) ou ainda devido à subnutrição observados em vacas confinadas (Zanela et al., 2006), em pastejo (Fischer et al., 2006a; Abreu, 2008), e vacas

da raça Holandês em pastejo (Marques, 2004; Fruscalso, 2007). Outro fator que pode colaborar para a redução da lactose é ainda passagem de lactose do leite para o sangue, através do aumento da permeabilidade nas junções paracelulares do epitélio mamário (Stelwagen et al., 2000).

O coeficiente de correlação positivo e moderado entre o teste do álcool e TCT coincide com os resultados encontrados por Negri (2002); Paez et al. (2006); Molina et al. (2001), Chavez et al. (2004) e Alvarado et al. (2008) os quais encontraram correlações moderadas. Esses autores alegam não ser o teste do álcool um bom estimador da estabilidade térmica do leite o que é também ressaltado por Singh (2004). A estabilidade ao álcool e a estabilidade térmica são fenômenos distintos que apresentam alguns dos fatores de interferência similares, entre os quais, um dos principais seria o pH (Negri, 2002 e Chaves et al., 2004), o que coincide com esse estudo, uma vez que esse fator apresentou correlação tanto com a estabilidade ao álcool quanto com a estabilidade térmica. A subjetividade do TCT pode ser um dos principais fatores de interferência na correlação entre os dois testes, uma vez que pequenas variações metodológicas ou de observação, de capacidade de detecção no momento de formação dos grumos podem interferir no tempo final de coagulação do leite (Singh, 2004). Observa-se que a velocidade de agitação do óleo e o espaço entre a amostra de leite e as extremidades dos capilares, pela presença do oxigênio, interferem no resultado final do teste (Davies & White, 1966).

Em relação ao efeito mês, ano e interação, pode-se observar os resultados a partir da tabela 5.

Tabela 5: Médias, máxima e mínima e análise estatística do efeito mês, ano e interação mês/ano referente às características físico-químicas, microbiológicas, leite instável e tempo de coagulação.

VARIÁVEL	P>F				MIN	MAX	CV
	MÉDIA	MÊS	ANO	MÊS*ANO			
pH	6,74	<0,0001	<0,0001	<0,0001	6,68	6,78	1,19

Acidez (°D)	15,85	<0,0001	<0,0001	<0,0001	14,98	16,80	7,98
Álcool (% v/v)	71,80	<0,0001	<0,0001	0,0152	72,75	77,91	5,36
CCS (cs/mL)	742.569	0,0684	0,1457	0,3992	587.750	990.306	11,41
CBT (UFC/mL)	2150.953	<0,0001	0,0011	0,0552	949.022	5432.520	19,68
Lactose (%)	4,35	<0,0001	0,0013	<0,0001	4,22	4,46	3,46
Proteína (%)	3,10	<0,0001	0,0129	0,0485	2,99	3,18	5,74
Gordura (%)	3,74	<0,0001	0,5792	0,0003	3,41	3,94	9,99
ST ¹ (%)	12,22	<0,0001	<0,0001	<0,0001	11,78	12,75	3,89
LINA ²	0,81	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,37	1,00	46,09
TCT ³ (min)	5,02	0,0083	NE ⁴	NE ⁴	4,21	6,26	50,46

(1) Sólidos totais; (2) leite instável não ácido; (3) tempo de coagulação no tanque; (4) não estimado.

Houve interações significativas entre anos e meses de avaliação para o pH, acidez titulável, teor de álcool na mistura capaz de induzir a coagulação, teores de lactose, proteína, gordura, sólidos totais, LINA e TCT. Os valores de CCS não variaram entre os meses ou anos, nem sofreram interação entre eles. Por outro lado, a CBT variou entre os meses e entre os anos, mas não apresentou interação. Quanto ao pH, o valor mínimo foi no mês de abril de 2009 e o valor máximo no mês de julho de 2007, ainda observou-se uma tendência que os meses de final de outono e os do inverno apresentassem valores mais altos de pH (figura 3). Essa tendência pode ser explicada pela temperatura ambiente do período que, por ser mais baixa, melhora o efeito dos sistemas de frio no controle do desenvolvimento dos microorganismos.

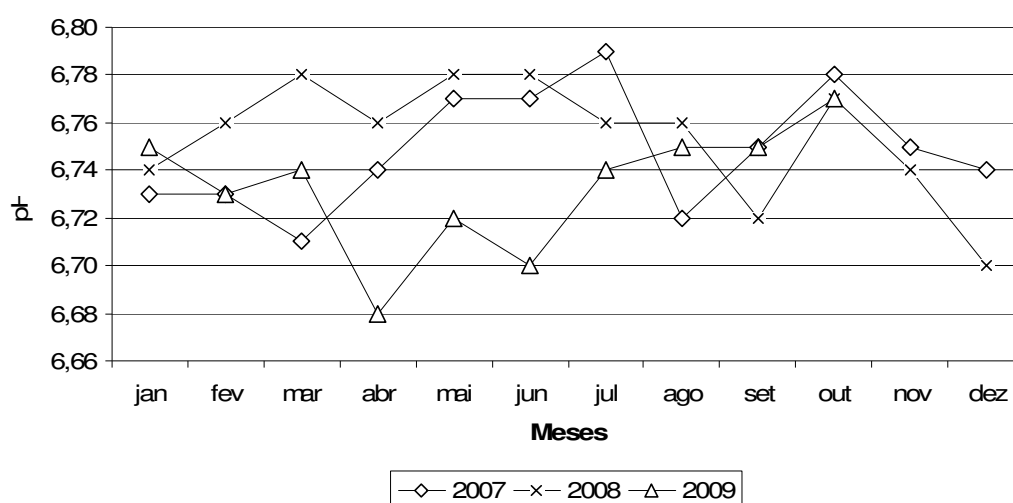


Figura 3: Distribuição das médias de pH nos meses, durante os três anos de experimento.

Em relação à acidez titulável, os valores mínimos e máximos foram

observados nos meses de agosto de 2008 e agosto de 2007, respectivamente.

Os resultados de concentração de álcool apresentaram os valores mínimos no mês de março de 2008 e o máximo no mês de agosto de 2007. Observou-se ainda que o ano de 2007 sempre apresentou os valores mais altos para concentração de etanol (figura 4). Esse resultado apresenta coerência ao analisarmos que os períodos coincidem para o aparecimento de LINA na região. Esses resultados podem ser explicados por variações climáticas e dificuldade na produção de alimentos de qualidade. O período de ocorrência do LINA coincide com o encontrado por Marques et al., (2007), entretanto é diferente do período estipulado por Zanela et al., (2006), em trabalho realizado na região noroeste do Rio Grande do Sul, possivelmente por características distintas entre os sistemas de produção, como época de plantio e uso de pastagens, etc..

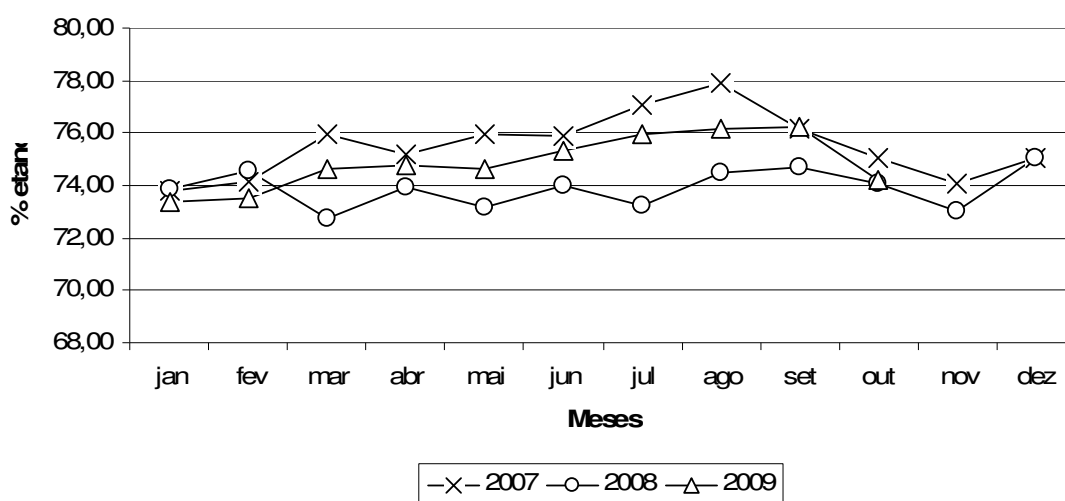


Figura 4: Distribuição das médias de concentração de álcool nos meses, nos três anos do experimento.

A contagem bacteriana apresentou os menores valores em abril e o de maior valor em março, além de ter apresentado o maior valor médio em 2007 (figura 5). Esse resultado pode estar vinculado à temperatura ambiente do período bem como, com o índice de precipitação do período.

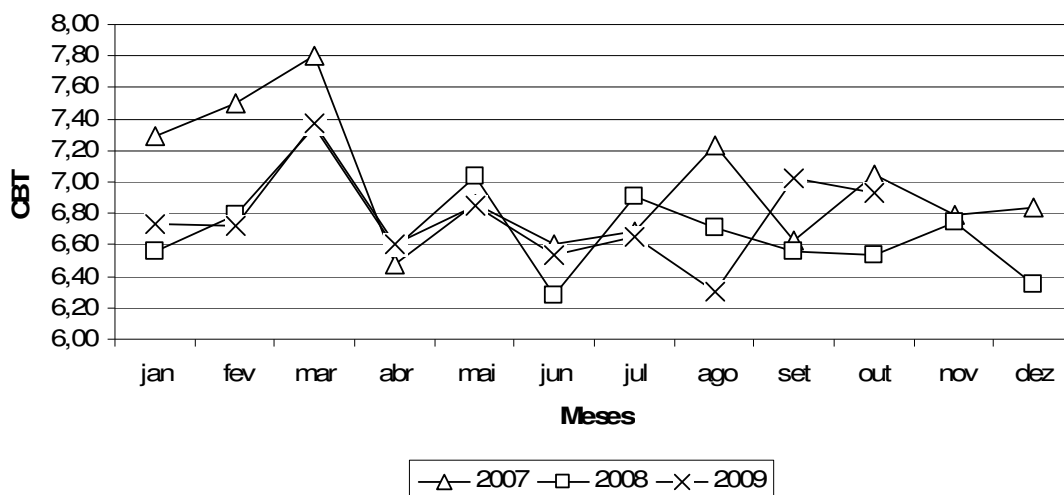


Figura 5: Médias, transformadas por logaritmo, de contagem bacteriana distribuída pelos meses, nos três anos do experimento.

O teor de lactose sempre ficou abaixo dos valores preconizados como normal (4,6%), apresentando seus menores valores no período do verão (figura 6).

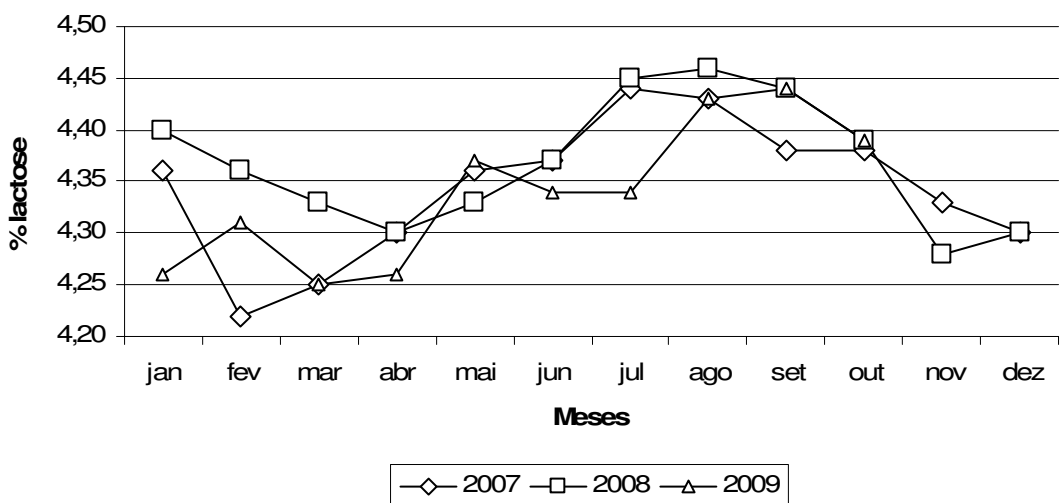


Figura 6: Teores de lactose distribuídos pelos meses, nos três anos do experimento.

Esse teor de lactose mais baixo nos períodos mais quentes pode estar relacionado com a dificuldade de produção de alimentos de qualidade e quantidade suficiente para a manutenção da produção dos animais. Deve-se considerar ainda que esse período coincide com uma contagem bacteriana mais elevada, o que pode estar contribuindo para essa alteração dos teores de lactose. Os valores menores de lactose também foram encontrados por Fruscalso (2007), Vieiro (2008) e Abreu (2008).

O teor de proteína no período de novembro de 2008 apresentou os valores mínimos, exigido na IN 51 (figura 7).

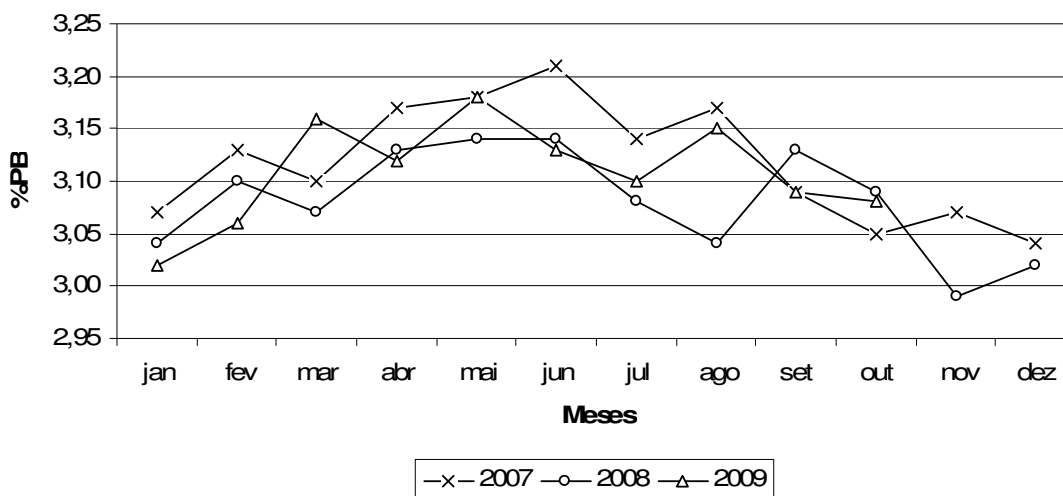


Figura 7: Médias de proteína distribuídas pelos meses, nos três anos do experimento.

Novamente observa-se que o período do verão nos três anos foi o que apresentou as menores concentrações de proteína no leite, isso pode estar relacionado com um desequilíbrio nutricional a partir de uma baixa qualidade dos alimentos ofertados no período. A concentração da proteína pode ser modificada, entre outros fatores, pela deficiência de aminoácidos ou desequilíbrio na proporção energia:proteína da dieta (Perez Jr., 2001).

Os valores de gordura não sofreram efeito ano. Quanto ao tempo de coagulação no tanque, houve um elevado coeficiente de variação, o que demonstra a variabilidade dos tempos encontrados e houve efeito mês, sendo os valores mínimos e máximos encontrados nos meses de dezembro e novembro de 2008. No caso do TCT não foi avaliado efeito ano e nem a interação por não ter sido realizada essa análise nos anos anteriores do experimento.

Conclusões

Existe alta incidência de leite instável não ácido na região nordeste do Rio Grande do Sul, sendo o outono o período de maior ocorrência.

As contagens bacterianas e de células somáticas se encontram acima dos limites determinados pela legislação.

A composição do leite se encontrou dentro dos valores especificados na legislação brasileira que determina os padrões de qualidade.

O pH, mesmo dentro dos padrões normais, foi o principal fator de interferência na estabilidade do leite, tanto ao teste do álcool quanto ao teste de tempo de coagulação.

O teste do álcool foi moderadamente relacionado ao TCT.

O teste de tempo de coagulação no tanque (TCT) se apresentou pouco prático para o uso de rotina no sistema industrial do leite com uma grande variação nos tempos encontrados.

O leite considerado instável ao álcool pela indústria apresenta as demais características dentro dos padrões legais para a aceitação da matéria prima, portanto, sugere-se que o teste do álcool seja revisto em sua importância, deixando de ser um teste para a recusa do leite na propriedade, passando a ser uma análise para a destinação do uso da matéria prima na indústria.

Literatura Citada

- AULDIST, M. J. & HUBBLE I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Australian Journal of Dairy Technology**. v. 53, n. 1, p 28-36, 1998.
- ALVARADO, C. et al. Uso de la prueba del alcohol en la estimación de la estabilidad proteica en leche de un rebaño Holstein de la zona central de Venezuela. In: XIII Congreso Venezolano de Producción e Indústria Animal. **Anais...Venezuela**, 2008.
- BARBOSA, R. S. et al. Efeito do período de lactação e estabilidade do leite sobre as características físico-químicas. In: I Congresso Brasileiro de Nutrição Animal, 2008. **Anais de Congresso: Fortaleza**. 2008.
- BARBOSA, C. P. et al. Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “Califórnia Mastitis Test” (CMT), no diagnóstico de mastite bovina. **Bioscience journal**. v. 18, n. 1, p. 93-102, 2002.
- BARROS, L. et al. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, v.9, 315p. 1999.
- BRASIL, Instrução Normativa 51. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

2002.

BORGES, K. A. et al. Avaliação da qualidade do leite de propriedades da região do vale do Taquari no estado do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 37, n. 1, p. 39-44, 2009.

BUENO, V. F. F. et al. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e o período do ano no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v. 15, n. 1, p. 40-44, 2008.

CHAVES, M. et al. Factores que afectan el resultado de la prueba del alcohol en leches con bajos recuentos de bacterias viables. In: 24° Congreso Argentino de Producción Animal. **Anais...** Rafaela-AR. 2001.

CUNHA, R.P.L. et al. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.1, p. 19-24, 2008.

DAVIES, D.T. e WHITE, J.C.D. The stability of milk protein to heat. **Journal of Dairy Research** n. 33, p.67-71, 1966.

FARIÑA, L.O. de. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em estabelecimentos da agricultura familiar envolvidos na pecuária leiteira dos municípios de Cascavel e Guaraniçu/PR. **Conexão UEPG**. 2009.

FISCHER, V. et al. Chemical composition of unstable non-acid milk. **Revista de Ciências Veterinárias**. v. 4, n.4, s.1, p.52, 2006.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FRUSCALSO, V. **Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência de leite instável ao ácido**. 2007. 147f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2007.

_____. Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos Meses do Ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 33, n. 6, p.1531-1543, 2004.

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**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. p.44-57.

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. **Eur. Biophys. J.**, 33:421-434, 2004.

HORNE, D.S & MUIR, D.D. Alcohol and heat stability of Milk protein. **Journal of dairy research**. v. 46, n. 3, p.433-439, 1990.

- KIVÁRIA, F. M.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; NIELEN, M. Interpretation of California mastitis test scores using *Staphylococcus aureus* culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. **Preventive Veterinary Medicine**. V. 78, p. 274-285, 2007.
- MARQUES, L.T. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira Agrociência**. v. 13, n. 1, p.91-97, 2007.
- MARTINS, P. R. G. et al. Produção e qualidade do leite em sistemas de produção da região leiteira de Pelotas, RS, Brasil. **Revista Ciência Rural**, v.37, n1, p. 212-217, 2007.
- MIKHEEVA, L.M. et al. Thermodynamics of micellization of bovine β -casein studied by high-sensitivity differential scanning calorimetry. **Langmuir**, v.19, 2913-2921. 2003.
- MOLINA, L.H.; et al. Correlación entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. **Archivos de Medicina Veterinaria**. n° 2, vol 33, Valdivia: Chile. 2001.
- MONTEIRO, A.A. et al. Características da produção leiteira da região do agreste do estado de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**. v. 28, n. 4, p. 665-674, 2007
- NEGRI, L. M. **Estudio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre La estabilidad térmica**. 2002. 169f. Tesis (Magister em Ciência y Tecnologia de los Alimentos) Facultad de Ingeniería Química, Argentina, 2002.
- OGOLA, H. et al. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal Veterinary Science**. v. 8, n. 3, p.237-242, 2007.
- OLIVEIRA, D. dos S. et al. Ocorrência de leite com instabilidade da caseína em Santa Vitória do Palmar, RS. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v. 14, n. 2, p. 101-104, 2007.
- ORDÓÑEZ, J. A.; et al. **Tecnología de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005. 279p.
- PAEZ, R. et al. Estudio de la estabilidad térmica y al alcohol durante los días pos-parto en leche cruda de vaca. In: 9° Congreso Panamericano do Leite. **Anais...** Porto Alegre-RS. 2006.
- PHILIPPE, M. et al. Physicochemical characterization of calcium-supplemented skim Milk. **Lait**. Le Ulis, v. 83, p.45-59, 2003.
- RAMIRES, C. H.; BERGER, E. L.; ALMEIDA, R. Influência da qualidade microbiológica da água sobre a qualidade do leite. **Archives of Veterinary Science**. v. 14, n. 1, p. 36-42, 2009.
- ROSA, M.S. da et al. **Boas Práticas de Manejo – Ordenha**. Jaboticabal: Funep. 43p.

- 2009.
- SANTOS, M.V. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite. In: O **COMPROMISSO** com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo: UPF, 331p, 2004.
- SHITANDI, A. & KIHUMBU, G. Assessment of the California mastitis test usage in smallholder dairy herds and risk of violative antimicrobial residues. **Journal of Veterinary Science**. v. 5, n. 1, p.5-9, 2004.
- SILVA, L.C. et al. Influência dos fenômenos *El niño* e *La niña* na precipitação e temperatura de Rio Grande-RS, 2001.
- SILVA, N. Doença da Glândula Mamária: mamite/mastite. In: Marques, D. C. (Ed.) **Criação de Bovinos**. 7.ed. Belo Horizonte: Consultoria Veterinária e Publicações, 2003. p. 435-451. In: Congresso de Iniciação Científica. **Anais...**Rio Grande: Faculdade de Agronomia. 2003.
- SILVA, P. H. F.; **Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos**. Juiz de Fora, 1997.
- _____. Leite UHT: **Fatores determinantes para a sedimentação e geleificação**. Juiz de Fora, MG, 2004. 128p.
- SINGH, H. Heat Stability of Milk. **International Journal of Dairy Technology**. v. 57, n 2/3, 111 – 119. 2004.
- STELWAGEN, K. et al. **Short Communication: Effects of isolation stress on mammary tight junctions in lactating dairy cows**. J. Dairy Sci, n. 83, p.48-51, 2000.
- TRONCO, V.M. **Manual para inspeção e qualidade do leite**. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 166p. 1997.
- VALLIN, V.M. et al. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 181-188, 2009
- VETHARANIAM, I. Modeling the Interaction of Milking Frequency and Nutrition on Mammary Gland Growth and Lactation. **Journal Dairy Science**. n. 86, p.1987-1996, 2003.
- VIERO, V. **Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido**. 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2008.
- WALSTRA, P. e JENNESS, R. **Química y física lactológica**. Editorial Acribia (Zaragoza), 423p. 1984.
- WALSTRA, P. et al. **Dairy Technology: principles of milk properties and processes**. Food Science and Technology. 1999. 727p.

WINK, C.A. e THALER NETO, A. Diagnóstico da adequação de propriedades leiteiras em Santa Catarina às normas brasileiras de qualidade do leite. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. v.8, n.2, p. 164-172, 2009

ZAFALON, L. F. et al. Influência da mastite sub-clínica bovina sobre as frações protéicas do leite. **Arquivos do Instituto de Biologia**. v. 75, n. 2, p. 135-140, 2008.

ZANELA, M. B. et al. Qualidade do leite em sistemas de produção na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n.1, p. 153-159, 2006a.

_____. et al. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n.5, p. 835-840, 2006b.

_____. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivos Brasileiros de Veterinária e Zootecnia**. v.61, n.4, p.1009-1013, 2009.

CAPÍTULO IV

Efeito de diferentes proporções de concentrado na dieta sobre o perfil sanguíneo do animal, características físico-químicas e de estabilidade do leite¹

¹ Artigo científico sob as normas da Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia – Anexo 1

Efeito de diferentes proporções de concentrado na dieta sobre o perfil sanguíneo do animal, características físico-químicas e de estabilidade do leite¹

Sandro Charopen Machado², Vivian Fischer³, Maira Balbinotti Zanela⁴, Luiz Henrique Sandri⁵, Luis Eduardo Sandri⁵, Alejandra Barrera⁶.

¹ Trabalho financiado pelo edital Universal CNPq-2008.

² Doutorando do Programa de Zootecnia – UFRGS, professor do Curso de Medicina Veterinária – FAI/SC. charopen@gmail.com

³ Professora Doutora orientadora - UFRGS.

⁴ Professora Doutora - UFRGS.

⁵ Alunos de graduação do curso de Biomedicina do Centro Universitário Feevale.

⁶ Estagiária laboratório .

RESUMO – Objetivou-se avaliar o efeito do fornecimento de três diferentes proporções de concentrado na dieta sobre as características sanguíneas dos animais, características físico-químicas e de estabilidade do leite. Foram utilizados 24 vacas em lactação da raça holandesa, divididas em três grupos conforme delineamento completamente casualizado. Os animais receberam três dietas com diferentes proporções de concentrado (35, 45 e 55%). Foram avaliadas a produção de leite individual, dias em lactação, peso vivo, condição corporal, características físicas e composição química do leite e sangue, além da estabilidade do leite no teste do álcool etempo de coagulação. Foi realizada análise de variância e de frequências (SAS,2001) através dos procedimentos FREQ, GLM e REG, utilizando, para cada atributo, o número de dias em lactação e o valor inicial do atributo como co-variáveis para o ajuste de médias. Os dados de contagem bacteriana e de células somáticas sofreram transformação logarítmica antes da análise estatística. As diferentes proporções de concentrado na dieta não alteraram as características estudadas, exceto os valores de pH ruminal e teor de uréia do leite e sanguíneos. O aumento dos níveis de concentrado na dieta reduziram o pH ruminal, dentro de valores aceitáveis, e os teores de nitrogênio uréico no leite e no sangue. A manipulação da dieta pode ser uma ferramenta para o produtor aumentar a sustentabilidade do seu sistema de produção sem prejudicar a produção e as principais características do leite.

Palavras-chave: alimentação, álcool, estabilidade, tempo de coagulação

Effect of different proportions of concentrate in the diet on the blood profile of the animal, physical and chemical characteristics and stability of milk

ABSTRACT - This study aimed to evaluate the effect of using three different proportions of concentrate in the diet on the blood characteristics of animals, physical and chemical characteristics and milk stability. We used 24 Holstein lactating cows divided into three groups according to a completely randomized design. The animals were fed three diets with different proportions of concentrate (35, 45 and 55%). We evaluated the individual milk production, days in milk, body weight, body condition, physical characteristics and chemical composition of milk and blood, as well as stability measured as heat coagulation time and coagulation at the alcohol test. Variance analysis and frequencies distribution were used (SAS,2001), with the procedures FREQ, GLM and REG, using the days in milk and the initial values of each attribute, as covariates for means adjustment. Bacterial count and somatic cell count data underwent logarithmic transformation before statistical analysis. The different proportions of concentrate in the diet did not alter most of the characteristics studied, except for ruminal pH, blood and milk urea nitrogen. Increasing levels of concentrate reduced ruminal pH, within acceptable range, and ureic nitrogen of blood and milk. Diet manipulation might be a useful tool for milk producers attain sustainable milk production systems without damage for yield or milk attributes. , what might be

Keywords: alcohol, feeding, stability, coagulation time.

Introdução

A partir do desenvolvimento de técnicas de conservação do leite as quais utilizam a ação mais severa da temperatura, voltadas para a produção de leite UHT, em pó e evaporado, a exigência do mercado consumidor por produtos lácteos de melhor qualidade e maior vida de prateleira, as indústrias laticinistas necessitam de uma matéria prima de melhor qualidade físico-química e com capacidade de suportar os tratamentos térmicos (Órdoñez et al. 2005).

Seguindo as normas na Instrução Normativa 51, a indústria tem realizado testes para a averiguação da qualidade do leite, evitando dessa forma, problemas no momento

do processamento. Entre esses testes pode-se citar a composição química (gordura, proteína e sólidos totais), contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), acidez titulável e estabilidade ao álcool mínima em 72% v/v (Brasil, 2002).

Com esses testes e com um controle mais rigoroso na captação de leite na propriedade rural, detectou-se o aumento do número de amostras com problemas de qualidade, como elevadas contagens bacterianas e de células somáticas (Wink e Thaler neto, 2009), baixos teores de sólidos totais e desengordurados (Marques, 2009), de leite instável não ácido, que seria aquela matéria prima que apresenta a acidez titulável dentro do padrão determinado pela legislação (14 – 18° D), entretanto precipita no teste do álcool na concentração mínima exigida (Marques et al., 2007; Zanela et al., 2008 e 2009).

Essa alteração desencadeia uma problemática muito grande no setor produtivo do leite, principalmente pelo fato de ainda não ser totalmente definido o que é, como se desenvolve e como se resolve esse problema e, ainda leva a rejeição, leite que estaria apto ao processamento (Donatele et al., 2003).

O teste do álcool passou a ser utilizado não só com o objetivo de avaliar a acidez do leite, quando acrescido de alizarina (Tronco, 1997), mas alguns pesquisadores passaram a sugerir que com esse teste também se estimaria a estabilidade térmica do leite, pela similaridade com que ocorrem os processos (Silva, 2004).

Em trabalhos realizados na Argentina, contestou-se a idéia de o teste do álcool estimar a estabilidade térmica do leite e, determinou-se que a estabilidade ao álcool e térmica são processos multifatoriais, que apresentam alguns fatores determinantes semelhantes, entretanto mecanismos de ocorrências distintos (Negri, 2002; Chavez et al., 2004).

Entre os fatores que podem interferir na estabilidade do leite frente ao teste do

álcool e na estabilidade térmica, está a alimentação dos animais, principalmente o desequilíbrio mineral dos pastos (Barros, 2001; Barros, 2006). Dietas desequilibradas, principalmente em seus teores de fibra e/ou na composição protéica do concentrado, levam à desestabilização do leite no teste do álcool (Velo, 1998). Animais com restrição alimentar apresentam maior incidência de instabilidade do leite, sendo dessa forma um dos principais fatores etiológicos dessa alteração (Zanela, 2004; Zanela et al., 2006). Da mesma forma, animais alimentados com dietas aniônicas, e com acidose metabólica (Marques, et al., 2006).

O efeito da nutrição sobre a qualidade físico-química do leite está relacionado com a síntese dos seus componentes, uma vez que a composição do leite é originária dos nutrientes que vem do sangue e são transformados na glândula mamária ou apenas passam direto do sangue para o leite (Walstra et al., 1999).

Os componentes do leite que são sintetizados pela célula do alvéolo mamário são altamente dependentes da energia disponível no organismo do animal, uma vez que processos anabólicos necessitam de energia. No caso da lactose, a glicose é o principal nutriente precursor, sendo que 80% da glicose é utilizada como matéria prima da lactose e o restante que chega ao alvéolo é utilizada como energia para a síntese (González, 2001).

Em muitos casos, os animais que se encontram em desequilíbrio nutricional apresentam uma maior concentração dos componentes do leite, isso pode ser explicado pelo fato da passagem de algumas substâncias direta do sangue para o leite (albumina e globulina) ou pela diminuição do volume do leite, o que leva a uma concentração de sólidos (Marques, 2008; Mühlbach, 2003).

Objetivou-se avaliar o efeito de dietas com diferentes proporções de concentrado sobre os aspectos sanguíneos dos animais e os aspectos de características físico-

químicas e de estabilidade do leite.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido em uma propriedade rural localizada no município de Rolante - Rio Grande do Sul, entre 18/05/2009 e 27/07/2009. Foram utilizadas 24 vacas da raça holandesa, divididas em três grupos de acordo com a produção de leite, peso vivo, escore de condição corporal e tempo de lactação (tabela 1). Para o experimento foram descartados animais com avançado estágio de lactação ou positivo para mastite.

Tabela 1: Média e desvio padrão do peso vivo, condição corporal, produção de leite e estágio de lactação das vacas ao início do experimento, antes de receberem as dietas

Medidas	Tratamentos ¹		
	35%	45%	55%
Peso corporal (Kg)	583 ± 68,33	547 ± 81,36	595 ± 56,08
Condição corporal (1 – 5)	3,03 ± 0,21	3,25 ± 0,13	3,03 ± 0,34
Produção de leite (l/dia)	17,50 ± 2,73	18,12 ± 3,37	19,63 ± 2,97
Período de lactação (dias)	121,50 ± 14,31	119,75 ± 30,96	122,13 ± 17,01

¹ Nível de concentrado na dieta

O experimento teve uma duração de 71 dias sendo que destes, 15 dias foram de período pré-experimental, quando todos os animais receberam a mesma dieta. Durante essa fase, coletaram-se amostras de leite para a determinação de composição química, contagem bacteriana total (CBT), contagem de células somáticas (CCS), acidez titulável, pH, fervura, estabilidade ao etanol e tempo de coagulação no tanque (TCT).

O período experimental durou 56 dias e os animais receberam as dietas com diferentes proporções de concentrado (tabela 2). Os animais foram mantidos confinados e foram alimentados individualmente, duas vezes por dia, às 8:00 e às 18:00 horas.

Tabela 2: Quantidades “in natura” diárias dos alimentos fornecidos às vacas leiteiras de acordo a proporção de concentrado na dieta

Alimentos ⁽¹⁾	Composição	Tratamentos ⁽²⁾		
		35%	45%	55%
		Kg/an/dia	Kg/an/dia	Kg/an/dia

Silagem de milho	MS %	28,64			
	FDN %	15,36	43	36	30
	PB %	2,27			
Resíduo de cervejaria	MS %	25,19			
	FDN %	14,29	9,5	12	14,5
	PB %	7,77			
Concentrado	MS %	87			
	FDN %	-	5	6,5	8
	PB %	18			
Farinha de ostras			0,12	0,15	0,18
Sal mineral			0,06	0,06	0,06

(1) Alimentos disponíveis na propriedade; (2) Proporção de concentrado na dieta dos animais

As amostras de alimentos foram coletadas semanalmente, diretamente do cocho, secas, moídas e armazenadas. Ao final do experimento, foram misturadas em quantidades iguais e foi retirada uma amostra composta com aproximadamente 200 g para posterior análise bromatológica.

Na fase experimental realizaram-se as seguintes coletas e análises:

Pesagem e ECC: a avaliação do peso dos animais foi feita com as fitas torácicas, nos dias 0, 28 e 56 do período experimental, sempre pela manhã logo após a chegada dos animais para o galpão de alimentação. A avaliação da condição corporal dos animais foi realizada concomitantemente de acordo com uma escala de 1 a 5 (Willdman et al., 1982);

Produção e composição do leite: medida da produção de leite individualizada usando utilizando medidores mecânicos, nas ordenhas da manhã e da tarde, efetuada nos dias 0, 28 e 56 do período experimental;

Composição, CCS e CBT: as amostras de leite provenientes da mistura do leite das ordenhas matutina e vespertina foram colocadas em frascos de vidro, adicionadas de Bronopol, identificadas e enviadas ao laboratório da Universidade de Passo Fundo (UPF), para o Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros (SARLE), analisadas pelo método de contagem eletrônica por citometria de fluxo para CBT e pelo método de espectrofotometria por radiação infravermelha para CCS e composição química

(Fonseca e Santos, 2000). A amostra de leite destinada à contagem bacteriana foi preparada em recipiente específico com três gotas de Azidiol; Uréia: as amostras coletadas e adicionadas do conservante Bronopol foram enviadas para a Clínica do Leite em São Paulo e analisadas pelo método de espectrofotometria infravermelha (AOAC, 2005); Minerais do leite: amostras coletadas nos dias 0 e 56 do período experimental foram congeladas em tubos de *ependorffs* e destinadas para determinação de sódio, cálcio, potássio e magnésio pelo método de espectrofotometria de absorção atômica, fósforo por gravimetria (AOAC, 2005);

Características físicas do leite: uma parte da amostra coletada nos dias 0, 28 e 56 do período experimental foi enviada ao laboratório de bromatologia do Centro Universitário Feevale para a determinação das características físicas do leite, tais como, acidez titulável pelo método de Dornic (Tronco, 2007), pH por potenciometria (Órdoñez et al., 2005), estabilidade ao etanol em diferentes concentrações (68, 70, 72, 74, 76, 78 e 80% de etanol v/v) (Tronco, 1997), fervura (Silva, 1997) e tempo de coagulação no tanque (Negri, 2002). Essas amostras foram transportadas sob refrigeração e sem o uso de conservantes sendo o processamento realizado imediatamente após a coleta;

Coleta de urina: realizada nos dias 0, 28 e 56 do período experimental, por liberação espontânea e/ou massagem da região vulvar dos animais. Utilizou-se peagâmetro da marca Hanna[®], e a medida foi efetuada imediatamente após a coleta;

Coleta de líquido ruminal: coleta realizada nos dias 0, 28 e 56 do período experimental, se fez utilizando sonda esofágica (Feitosa, 2008), imediatamente após a chegada dos animais ao galpão, não permitindo que os mesmos tomassem água. Após a coleta do material, fez-se a medida do pH desse líquido;

Sangue: as coletas foram feitas nos dias 0 e 56 do período experimental, na veia coccigea, com tubos Vacutainer[®] sem conservantes e/ou anticoagulantes.

Imediatamente após a coleta do material se deixou a amostra em repouso por um período de cinco a dez minutos para permitir a formação do coágulo e, em seguida se procedeu a centrifugação dos tubos com o fim de separar o soro que foi imediatamente disponibilizado e congelado em tubos de *Ependorffs*.

O delineamento foi o completamente casualizado e os resultados foram submetidos à análise de variância e de distribuição de frequências e utilizaram-se, para cada atributo, o número de dias em lactação e o valor inicial do atributo como co-variáveis para o ajuste de médias a. Os valores de CCS e CBT sofreram transformação logarítmica antes da análise estatística, porém, para melhor compreensão, os valores originais são apresentados durante o trabalho. Foi utilizado o programa SAS (2001) e os procedimentos, *FREQ*, *GLM* e *REG*.

Resultados e Discussão

Em relação às características dos animais, apenas o pH ruminal apresentou diferença significativa entre os grupos determinados, entretanto todos os valores ficaram dentro da faixa considerada adequada para a ação da flora ruminal (tabela 3).

Tabela 3: Resultados médios de acordo com o nível de concentrado na dieta e sua significância sobre as características dos animais

Variável ⁽¹⁾	Tratamento ⁽²⁾			P>F
	35%	45%	55%	
Peso (Kg)	585,34 ^a	574,10 ^a	588,30 ^a	0,2933
ECC (1 – 5) ⁽³⁾	3,13 ^a	3,18 ^a	3,19 ^a	0,4730
PL (L/dia) ⁽⁴⁾	21,98 ^a	23,59 ^a	23,82 ^a	0,4880
pH urinário	6,15 ^a	6,10 ^a	6,11 ^a	0,2347
pH ruminal	6,66 ^a	6,58 ^b	6,38 ^c	0,0001

(1) Letras diferentes na linha determinam diferença significativa entre os tratamentos a 5% de probabilidade no teste de F. Médias ajustadas por co-variância pelos valores iniciais e dias em lactação; (2) Tratamento: níveis de concentrado na dieta; (3) Escore de condição corporal; (4) Produção de leite

Não houve diferença significativa entre os grupos no que diz respeito ao peso final dos animais, escore de condição corporal, produção de leite, possivelmente por que as exigências nutricionais foram atendidas por todas as dietas, em função da produção leiteira não ser extremamente elevada. O pH da urina se apresentou dentro da faixa normal para ruminantes (5,5 – 8,0), embora tenha se apresentado mais ácida que o

esperado, superior a 6.5, não havendo uma explicação plausível para esses valores de pH. De qualquer modo, valores inferiores a 5,5 é que são reportados como indicativos de acidose metabólica (Gonzalez e Silva, 2006).

O pH ruminal se apresentou dentro da faixa normal, porém decresceu em função do acréscimo de concentrado na dieta ($\text{pH}_{\text{ruminal}} = 7,16 - 0,01 \text{ concentrado}$, $R^2=72$, $P<0,0001$), em função da maior produção de ácidos orgânicos provenientes da fermentação ruminal. Convém ressaltar que as amostras foram coletadas por sonda esofágica, e pode ter ocorrido uma maior coleta de saliva e um efeito tamponante sobre o pH ruminal. O sistema de coleta de líquido ruminal através de sonda esofágica apresenta o agravante de coletar maiores proporções de saliva o que pode mascarar o resultado de pH da saliva (Feitosa, 2008). A manutenção do pH ruminal adequado, próximo à neutralidade, permite um processo digestivo mais eficiente com melhor utilização dos nutrientes dos alimentos através de uma ação efetiva da microbiota ruminal (Van Soest, 1994).

Em relação às características físico-químicas do leite, o nível de concentrado na dieta afetou a concentração de uréia no leite, onde o grupo alimentado com menor proporção de concentrado apresentou maiores níveis desse componente (tabela 4), convém ressaltar que os três grupos apresentaram valores de uréia do leite dentro do valor normal (18 mg/dL).

As demais variáveis não sofreram efeito dos níveis de concentrado na dieta, isso pode ser em decorrência de uma menor necessidade nutricional dos animais, por serem de porte médio e uma produção leite não muito elevada (tabela 4).

Tabela 4: Valores de médias de acordo com a proporção de concentrado na dieta e sua significância sobre as características físico-químicas do leite

Variável ⁽¹⁾	Tratamento ⁽²⁾			
	35%	45%	55%	P>F
pH	6,69 ^a	6,67 ^a	6,67 ^a	0,9975
Álcool (% v/v)	80,24 ^a	80,73 ^a	79,91 ^a	0,4063

Acidez (°D)	16,61 ^a	16,62 ^a	16,63 ^a	0,8856
TCT (min) ⁽³⁾	6,73 ^a	6,42 ^a	6,72 ^a	0,7326
CCS (CCS/mL) ⁽⁴⁾	231.608 ^a	158.873 ^a	249.768 ^a	0,4852
CBT (UFC/mL) ⁽⁵⁾	280.941 ^a	256.794 ^a	272.264 ^a	0,5904
Proteína (%)	3,22 ^a	3,20 ^a	3,24 ^a	0,8692
Gordura (%)	4,10 ^a	3,93 ^a	3,80 ^a	0,2389
Lactose (%)	4,76 ^a	4,78 ^a	4,65 ^a	0,1466
Sólidos totais (%)	13,00 ^a	12,86 ^a	12,67 ^a	0,6282
Cálcio	2699,86 ^a	2652,76 ^a	2696,62 ^a	0,4007
Sódio	432.599 ^a	432.598 ^a	433.001 ^a	0,9975
Fósforo	674.218 ^a	687.119 ^a	651.161 ^a	0,3406
Magnésio	35.188 ^a	34.967 ^a	34.743 ^a	0,7144
Potássio	1798.05 ^a	1759.02 ^a	1759.25 ^a	0,5667
Salino ⁽⁶⁾	1,23 ^a	1,23 ^a	1,24 ^a	0,8514
Catânio ⁽⁷⁾	4,05 ^a	3,91 ^{ab}	4,25 ^a	0,1254
Uréia (mg/dL)	22,94 ^a	20,07 ^b	20,23 ^b	0,0371

(1) Letras diferentes na linha determinam diferença significativa entre os tratamentos a 5% de probabilidade no teste de F. Médias ajustadas por co-variância pelos valores iniciais e dias em lactação.

(2) Tratamento: níveis de concentrado na dieta.

(3) Tempo de Coagulação no Tanque

(4) Contagem de células somáticas

(5) Contagem bacteriana total

(6) Proporção de cátions divalentes em relação aos monovalentes = (Caitef + Mgitef)/(Naitef + Kleitef)

(7) Proporção de cátions divalentes em relação aos ânions = (Caitef + Mgitef)/Pleitef

Os níveis de uréia no leite devem sempre ser analisados levando em conta a composição protéica do mesmo, sendo que amostras com valores acima de 3,2% de proteína, devem conter um máximo de 18 mg/dL de uréia. Quando os valores ultrapassam o determinado, há um indicativo de excesso de proteína degradável na dieta ou uma deficiência de carboidratos de fácil fermentação (Perez Jr., 2001; Caldeira, 2005). A concentração de uréia no leite pode variar também por fatores não alimentares, entre esses fatores, pode-se ressaltar a produção média diária como um fator de interferência (Meyer et al., 2006).

O aumento de uréia no leite leva ao aumento do tempo de coagulação para a fabricação de queijos, uma vez que a proteína verdadeira é substituída pelo nitrogênio (Ferreira, et al., 2006).

Em relação à estabilidade do leite, considera-se que o aumento de uréia aumenta a estabilidade do leite e isso pode ocorrer pela diminuição da acidez do leite (Singh & Creamer, 1992), ou pela transformação da uréia em cianato, que reage com a proteína

aumentando as cargas negativas da micela dando maior força de repulsão e, por consequência, aumentando a estabilidade do leite (Sweetsur & Muir, 1981).

O uso de diferentes proporções de concentrado na dieta interferiu no nível de uréia no sangue diferindo entre os grupos extremos 55% e 35%, o grupo que consumia menores proporções de concentrado na dieta apresentou um maior nível de uréia no sangue, isso ocorreu por um menor aporte de carboidratos de rápida fermentação, o que diminui a utilização da proteína e aumenta os níveis de uréia. Os níveis dos minerais no sangue não diferiram entre os grupos, entretanto, os níveis de cálcio ficaram abaixo dos valores padrão (8 – 12,4 mg/dL), conforme pode ser visto na tabela 5.

Tabela 5: Nível de significância entre as médias das variáveis sanguíneas afetadas pela proporção de concentrado na dieta.

Variável ⁽¹⁾	Tratamento			
	35%	45%	55%	P>F
Glicose (mg/dL)	57,48 ^a	59,94 ^a	53,89 ^a	0,1461
Uréia (mg/dL)	43,52 ^a	39,99 ^a	37,36 ^{ab}	0,0369
Fósforo (mg/dL)	7,43 ^a	8,10 ^a	7,14 ^{ab}	0,1119
Cálcio (mg/dL)	5,95 ^a	6,09 ^a	5,81 ^a	0,3140

(1) Letras diferentes na linha determinam diferença significativa entre os tratamentos a 5% de probabilidade no teste de F. Médias ajustadas por co-variância pelos valores iniciais e dias em lactação.

O valor de glicose em bovinos é de 45 – 75mg/dL de sangue, sendo um importante descritor do perfil metabólico energético do organismo (González e Silva, 2006).

É importante ressaltar que o nível de uréia sanguínea em bovinos apresenta uma faixa bastante ampla (18 – 45 mg/dL), podendo variar de acordo com o equilíbrio proteína e energia da dieta, uma vez que um *déficit* energético determina uma menor utilização da proteína o que determina um aumento da uréia sanguínea (González e Silva, 2006).

Em trabalho realizado na região de Pelotas/RS, Marques (2008) encontrou valores de uréia bem inferiores aos encontrados nesse trabalho, entretanto, cabe ressaltar que o trabalho era realizado com animais que recebiam dietas desequilibradas e com baixo teor de proteína.

O nível de uréia sanguínea é um bom demonstrativo do consumo protéico pelo animal ou ainda um descritivo da relação proteína/energia na dieta (Wittwer, 2000, Caldeira, 2006).

Avaliando o efeito do nível de concentrado na dieta sobre a estabilidade do leite ao álcool 78% v/v, observa-se que os três grupos apresentaram baixa frequência de leite instável (tabela 6), sendo que o grupo com 55% de concentrado na dieta foi o que apresentou maior incidência e o tratamento com 45% não teve casos de leite instável.

A baixa frequência de LINA nos grupos pode estar relacionada aos baixos valores de CCS e CBT ou também aos elevados valores de uréia no leite o que acaba determinando um aumento da estabilidade ao álcool.

Tabela 6: Frequência de casos de leite instável ao álcool 78% v/v, dentro dos tratamentos propostos.

Efeito	35%		45%		55%		Total
	N	%	N	%	N	%	
Estável	7	87,50	8	100,0	5	62,50	20
Instável	1	12,50	0	00,00	3	37,50	04

Em trabalho realizado no Chile, foi encontrado efeito da composição da dieta sobre a frequência de aparecimento de LINA, principalmente quando há baixos níveis de fibra bruta e matéria seca (Ferrari et al., 2007).

Considerando a incidência de leite instável dentro dos grupos propostos, quando se avalia a significância das variáveis em respeito ao aparecimento de leite instável não ácido dentro do experimento, percebe-se que a concentração de álcool necessária para a formação de grumos ficou acima do recomendado pela IN 51(Brasil, 2002), porém ficou abaixo dos valores utilizados pela indústria.

Ainda apresentou menor concentração de glicose, fósforo e cálcio sanguíneo, apesar de os valores de glicose e fósforo se encontrarem dentro dos padrões considerados normais (González e Silva, 2001) e, o leite instável apresentou maior contagem bacteriana.

Observa-se uma tendência dos animais produzindo leite instável apresentem um pH ruminal mais baixo. Os demais itens avaliados em relação ao LINA, não apresentaram diferenças significativas (Tabela 7).

Tabela 7: Resultados médios do leite estável e LINA e sua significância sobre a característica dos animais, produção, aspectos físicos e químicos do leite e do sangue.

Variável ⁽¹⁾	Estabilidade Álcool 78% v/v ⁽²⁾		CV ⁽³⁾	P>F
	Não LINA	LINA		
Peso (Kg)	576,22	614,36	11,78	0,3221
ECC (1 – 5)	3,15	3,25	5,09	0,2776
PL (L/dia)	22,76	24,96	19,55	0,3831
pH urina	6,12	6,15	1,41	0,5401
pH ruminal	6,56	6,42	1,95	0,0592
pH leite	6,69	6,62	1,15	0,1399
Álcool (%v/v)	80,85 ^a	77,50 ^b	0,63	0,0001
Acidez (°D)	16,45	17,49	7,25	0,1300
TCT (min)	6,54	7,04	20,24	0,4989
CCS (cs/mL x 10 ³)	204	260	12,55	0,3494
CBT (UFC/mL x 10 ³)	201 ^b	610 ^a	17,83	0,0339
Proteína (%)	3,21	3,27	5,13	0,4573
Gordura (%)	3,94	3,99	9,02	0,8036
Lactose (%)	4,75	4,66	2,72	0,2432
Sólidos totais (%)	12,81	13,02	4,80	0,5376
Uréia leite (mg/dL)	21,19	20,51	11,62	0,6189
Cálcio leite	2679	2699	2,88	0,6448
Sódio leite	432	434	3,00	0,7835
Magnésio leite	34,95	35,00	2,93	0,9430
Fósforo leite	0,07	0,06	7,03	0,3411
Potássio leite	1775	1754	4,74	0,6520
Glicose sangue (mg/dL)	58,51 ^a	50,08 ^b	10,56	0,0187
Uréia sangue (mg/dL)	39,63	43,58	11,67	0,1410
Fósforo sangue (mg/dL)	7,75 ^a	6,58 ^b	12,54	0,0345
Cálcio sangue (mg/dL)	6,02 ^a	5,56 ^b	5,27	0,0141
Cataniof	4,04	4,23	7,78	0,2644
Salinof	1,23	1,25	3,98	0,4781

(1) Letras diferentes na linha determinam diferença significativa entre os tratamentos a 5% de probabilidade no teste de F. Médias ajustadas por co-variância pelos valores iniciais e dias em lactação.

(2) Concentração de álcool utilizada na indústria da região.

(3) Coeficiente de variação.

A diferença significativa entre os valores de contagem bacteriana dos leites estável e LINA, difere do descrito por Abreu (2008) que não observou diferença nesse item entre os dois tipos de leites. O aumento da contagem bacteriana pode intervir na qualidade e estabilidade do leite pela formação de ácidos a partir do catabolismo da lactose o que determina uma redução do pH (Tortora et al. 2005) e, a partir de mínimas modificações no pH, mudar a resposta do leite frente a concentração do álcool utilizada

(Horne & Muir, 1990).

Os resultados, quanto à variação da composição do leite, discordam daqueles encontrados por Marques et al. (2007) e Zanela et al. (2006), os quais encontraram diferença significativa entre os componentes do leite quando compararam leite instável com o estável. Entretanto, os resultados do experimento concordam com os resultados encontrados por Fruscalso (2007), Abreu (2008) e Viero (2008). Em um trabalho realizado em São Paulo, Lopes (2008) encontrou diferença significativa para os componentes do leite apenas em um período do ano, nos demais não houve diferenças significativas.

Os níveis sanguíneos de glicose são rapidamente controlados pelos mecanismos homeostáticos do organismo, o que determina que, apenas em fortes restrições alimentares, haja uma alteração nos níveis séricos desse componente (Gonzalez e Silva, 2001).

A análise de regressão dos dados de estabilidade ao álcool evidenciou a interferência das medidas de álcool inicial, da proporção entre os cátions divalentes e monovalentes medidos ao final do experimento (salinof) e do teor de Na: $\text{Concentração de álcool} = 53,44 + 0,29 \text{ concentração de álcool inicial} - 6,96 \text{ equilíbrio salino} + 0,03 \% \text{ Na no leite}$, ($R^2 = 35$; $P < 0,0001$). Em relação ao TCT, o tempo de coagulação inicial foi o principal fator de interferência ($\text{TCT} = 3,67 + 0,44 \text{ TCTi}$, $R^2 = 60,84$; $P > 0,0001$), sendo que esse resultado difere do encontrado por Chavez et al. (2004), onde os principais fatores que interferiram no tempo de coagulação foram o pH, a uréia, fósforo, cálcio iônico.

Conclusão

As diferentes proporções de concentrado na dieta não alteraram a maioria das características do leite e perfil sanguíneo estudadas, podendo ser uma possibilidade para

o produtor de manipular a alimentação dos animais de acordo com a necessidade da propriedade, sem afetar a qualidade do leite.

Agradecimento

Agradeço ao proprietário e todos os funcionários pela disposição e colaboração na realização desse experimento.

Literatura Citada

ABREU, A.S. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas jersey**. 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 17th ed. Washington: AOAC, 2005.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. IN: GONZÁLES, F.H.D., DÜRR, J.W., FONTANELLI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre, RS. p. 44-57, 2001.

_____. Ionized calcium as responsible of stability of milk. In: Congresso Pan-americano de Leite. Porto Alegre. **Anais**. p.427, 2006.

BRASIL, Instrução Normativa 51. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2002.

BUTLER, W. R., et al. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 74, p. 858-865, 1996.

CALDEIRA, R.M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas: artigo de revisão. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 100, p. 125-139, 2005.

CHAVES, M. et al. Factores que afectan el resultado de la prueba del alcohol en leches con bajos recuentos de bacterias viables. In: 24^o Congreso Argentino de Producción Animal. **Anais...** Rafaela-AR. 2001.

CHAVES, M. et al. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, n. 71, p. 201-206, 2004.

DONATELE, D.M.; VIEIRA, L.F.P.; FOLLY, M.M. Relação do teste de Alizarol a 72% (v/v) em leite “in natura” de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. **Rev. Higiene Alimentar**, v. 7, n.110, 2003.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2 ed. São Paulo: Rocca, 735p., 2008.

FERRARI, C.G.B. et al. Inestabilidad de la leche asociada a componentes lácteos y

- estacionalidad en vacas a pastoreo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.42, n.12, p.1785-1791, 2007.
- FERREIRA, M.G. et al. Uréia e qualidade do leite. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. n. 6, ano 3, 2006.
- FRUSCALSO, V. **Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência de leite instável ao ácido**. 2007. 147f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2007.
- GONZÁLEZ, F.H.D., DÜRR, J.W., FONTANELI, R.S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre – RS: Gráfica UFRGS, 68p., 2001.
- GONZALES, F. H. D e SILVA, S.G. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2006. 358 p.
- HORNE, D.S & MUIR, D.D. Alcohol and heat stability of Milk protein. **Journal of dairy research**. v. 46, n. 3, p.433-439, 1990.
- LOPES, L.C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo**. 2008. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP – São Paulo-SP, 2008.
- MARQUES, L.T. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 13, n. 1, p.91-97, 2007.
- MEYER, P.M. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1114-1121, 2006.
- MÜHLBACH, P.R.F. Nutrição da vaca em lactação e qualidade do leite. In: 1 Simpósio de Bovinocultura de Leite. **Anais...** Chapecó- SC, p. 25-43, 2003.
- NEGRI, L. M. **Estúdio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre La estabilidad térmica**. 2002. 169f. Tesis (Magister em Ciência y Tecnologia de los Alimentos) Facultad de Ingeniería Química, Argentina, 2002.
- ORDÓÑEZ, J. A.; et al. **Tecnología de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005. 279p.
- ORTOLANI, E. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Gramado, Brasil. 2002.
- PEREZ Jr., J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Ed.

- UFRGS, 2001. p.44-57.
- SILVA, P. H. F.; **Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos**. Juiz de Fora, 1997.
- _____. Leite UHT: **Fatores determinantes para a sedimentação e geleificação**. Juiz de Fora, MG, 2004. 128p.
- SINGH H. & CREAMER L.K. Heat stability of milk. In: **Advanced Dairy Chemistry. 1. Proteins**. Fox P.F., ed. Elsevier Appl. Science, London, p. 621-656, 1992.
- SWEETSUR, A.W.M. & MUIR, D.D. Role of cyanate ions in the urea-induced stabilization of the caseinate complex in skim-milk. **Journal of Dairy Research**. v. 48, p. 163-166, 1981.
- TORTORA, G.J. et al., **Microbiologia**. Artmed: São Paulo/SP. 8 ed., 894p. 2005.
- TRONCO, V.M. **Manual para inspeção e qualidade do leite**. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 166p. 1997.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Salem, OR: O & B Books, 485p, 1994.
- VELOSO, C.R.V. Noções básicas da acidez. In: **A qualidade do leite**. BRITO, J.R.F., DIAS, J.C. São Paulo: Tortuga, p.91-98, 1998.
- VIERO, V. **Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido**. 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2008.
- WALSTRA, P. et al. **Dairy Technology: principles of milk properties and processes**. Food Science and Technology. 1999. 727p.
- WILDMAN, E. E. et al. A dairy condition scoring system and its relationship to production characteristics. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.
- WITWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS J.; PATIÑO H.O.; RIBEIRO L.AL. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Ed. UFRGS, Porto Alegre, 2000.
- ZANELA, M.B. Caracterização do leite produzido no Rio Grande do sul, ocorrência e indução experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA). Pelotas, 2004. 143f. Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção Animal). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel, 2004.
- _____. et al. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n.5, p. 835-840, 2006.

CAPÍTULO V

Efeito da adição de citrato de sódio sobre a estabilidade do leite medida no teste do álcool e tempo de coagulação¹

¹ Nota técnica sob as normas da Revista Ciência Rural – Anexo 2

Efeito da adição de citrato de sódio sobre a estabilidade do leite medida no teste do álcool e tempo de coagulação

Effect of the sodium citrate inclusion on milk stability measured at the alcohol test and heat coagulation time

Sandro Charopen Machado¹, Vivian Fischer², Thais Schilling de Ávila³, Luis Henrique Sandri⁴, Luis Eduardo Sandri⁴, Alexandre Susenbach de Abreu⁵

- NOTA -

RESUMO

Avaliou-se o efeito da adição de citrato de sódio no leite cru sobre a sua estabilidade mensurada de acordo com dois métodos: teste do álcool e o tempo de coagulação (TC) a fim de estabelecer a correlação entre esses dois testes. O tratamento térmico do leite com a aplicação de temperaturas elevadas aumenta a necessidade da indústria em obter matéria prima com elevada resistência térmica. Uma das opções é a adição de citrato de sódio que apresenta um efeito sequestrante do cálcio livre no leite, tendo seu uso liberado pela legislação brasileira. Foram analisadas amostras de leite cru de tanques de resfriamento de 100 produtores localizados na região nordeste do RS, com ou sem a adição de 0,02% de citrato de sódio, avaliando estabilidade ao álcool, intensidade de coagulação, tempo de coagulação, pH, acidez titulável. A adição de citrato de sódio aumentou a estabilidade do leite, promovendo maiores TC e concentração de etanol para induzir a formação de grumos. O TC e a concentração de etanol necessária para induzir a coagulação foram positivamente relacionados ($n=200$, $r=0,21$, $P<0,01$), mas o TC foi negativamente relacionado ($n=200$, $r= -0,20$, $P<0,01$) com a intensidade de formação dos grumos. A adição de citrato melhorou a estabilidade do leite nas duas formas de avaliação, as quais foram moderadamente correlacionadas.

Palavras-chave: Álcool, estabilidade, Qualidade, Tempo de coagulação

¹ Aluno de Doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). charopen@gmail.com

² Orientadora do programa de Doutorado em Zootecnia - UFRGS

³ Aluna de Farmácia no Centro Universitário Feevale - Novo Hamburgo-RS

⁴ Aluno de biomedicina no Centro Universitário Feevale - Novo Hamburgo-RS

⁵ Professor Mestre do Curso de Veterinária da Faculdade de Itapiranga – Itapiranga - SC

ABSTRACT

This study was undertaken to evaluate the effect of sodium citrate addition into raw milk on stability measured with two methods: alcohol test and the coagulation time and establish the correlation between these two tests. The heat treatment of milk with the application of high temperatures increases the need for industry to obtain raw milk with high thermal resistance. One option is the addition of sodium citrate which makes kidnapping of free calcium in milk, with its use released by the Brazilian legislation. We analyzed samples of raw milk cooling tanks 100 producers located in the northeast of the RS, with or without the addition of 0.02% sodium citrate, assessing stability to alcohol, the intensity of coagulation, coagulation time, pH, acidity. The statistical analysis were used the procedures GLM, REG and CORR of SAS (2001). The addition of sodium citrate led to higher thermal stability by increasing the heat coagulation time and better stability in the alcohol test, requiring a higher concentration of alcohol to coagulate. The TC and the concentration of ethanol required to induce coagulation were positively related ($n = 200$, $r = 0.18$, $P < 0.05$), but the TC was negatively correlated ($n = 200$, $r = -0.15$, $P < 0.05$) with the intensity of formation of clots. The addition of citrate improved the stability of the milk in two forms of assessment, which were moderately correlated.

Keywords: Alcohol, Quality, Stability, Time of coagulation

As técnicas de conservação dos alimentos tem se aprimorado para permitir a inocuidade e o prolongamento da vida de prateleira dos alimentos, aumentando a quantidade ofertada. O método U.H.T. (*Ultra High Temperature*) exerce um efeito mais severo no momento do tratamento térmico, necessitando de uma matéria prima com maior estabilidade térmica (MARTINS et al. 2008).

As indústrias laticinistas avaliam a qualidade do leite cru na fazenda e na plataforma de recepção através de diversos testes (BRASIL, 2002). Entretanto a estabilidade térmica não é avaliada rotineiramente pelas indústrias, as quais usam o teste do álcool ou alizarol (concentração mínima de 72% de etanol v/v), por ser um teste rápido, barato e de fácil execução.

A estabilidade térmica do leite pode ser definida como a capacidade que este tem de suportar altas temperaturas sem que ocorra a formação de coágulos (SINGH, 2004). Entretanto, Essa capacidade de determinação da estabilidade térmica a partir do teste de álcool é contestada por NEGRI (2002) e MOLINA et al. (2001), as quais verificaram uma baixa correlação entre esses dois testes, ainda que, de acordo com SILVA (2004), os fatores que afetam a instabilidade ao álcool e térmica sejam os mesmos. Os principais fatores que afetam a estabilidade do leite são: acidez, teor/proporção de íons, especialmente os di e trivalentes, como cálcio, magnésio, fosfatos e citratos, além do tipo de caseína (SOMMER & BINNEY, 1922; HOLM et al., 1932; HORME & MUIR, 1990).

A necessidade de se determinar a estabilidade térmica se deve ao fato de que a exposição do leite a altas temperaturas pode causar a floculação do leite dentro do equipamento, o que pode causar a ineficiência da troca de calor, reduzindo a eficiência do processo, como descreve BASTOS (1999), além de exigir interrupções mais frequentes do funcionamento dos equipamentos para a sua limpeza.

A redução da estabilidade térmica do leite, estimada pelo teste do álcool, é um problema encontrado em vários estados do Brasil, como no norte do Rio de Janeiro (DONATELE et al., 2001) e nas regiões sudeste, sul e noroeste do Rio Grande do Sul (ZANELA et al., 2009; MARQUES et al., 2007), São Paulo (LOPES, 2008) e em algumas regiões de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro (ROMA JUNIOR et al., 2007).

Uma das alternativas da indústria para enfrentar o problema da baixa estabilidade é adicionar até 0,1% de citrato de sódio (Portaria n° 370/97 - BRASIL, 1997). O citrato, tem a capacidade de manter a estrutura micelar a partir do sequestro do cálcio que se encontra na forma ionizável (ÓRDOÑEZ et al., 2005; SALAÚN et al., 2004), o que

seria um dos principais fatores determinante da instabilidade do leite no teste do álcool e térmica (BARROS et al.,1999; CHAVEZ et al., 2004), pois de acordo com PHILIPPE et al. (2003), a saída do cálcio da estrutura micelar leva a uma desorganização da mesma, expondo a porção hidrofóbica da caseína o que predispõe a agregação.

SILVA (2004) verificou uma variação grande da concentração de citrato natural no leite, possivelmente influenciado pela raça, estágio de lactação e a alimentação dos animais (FOX, 1991).

Objetivou-se avaliar e comparar a estabilidade do leite de amostras de leite segundo o teste do álcool e tempo de coagulação com e sem adição de citrato. Para o experimento foram utilizadas amostras de 200 mL de leite cru, provenientes do tanque resfriador de 100 produtores leiteiros localizados na região nordeste do RS. As amostras foram divididas em duas subamostras, sendo que uma foi mantida natural e a outra recebeu 0,02% de citrato de sódio. Foram determinados: acidez (por potenciometria e titulação com solução de Dornic), concentração de etanol capaz de induzir a coagulação (ZANELA et al., 2009). Observou-se a ocorrência ou não da formação de grumos em cada concentração de etanol na solução alcoólica (entre 68 e 80%) e a intensidade de formação dos coágulos (ZANELA, 2004).

O teste do tempo de coagulação no tanque (TCT) foi realizado colocando o leite em capilares de vidro de 120 mm de comprimento, 0,15 mm de diâmetro externo e 0,08 mm de diâmetro interno, os quais foram cheios por capilaridade, deixando aproximadamente 1 cm de espaço em cada uma das extremidades. Os capilares foram fechados a fogo, utilizando bico de Bunsen. Após o seu fechamento, esses foram submersos em um banho-maria com glicerina a 145 °C de temperatura, e registrado o tempo até o aparecimento dos primeiros grumos (SINGH, 2004).

Para análise estatística foi utilizado o programa SAS (2001), através dos

Procedimentos GLM, REG, FREQ e CORR (Spearman), para avaliação da concentração mínima de etanol capaz de induzir a precipitação do leite, intensidade de coagulação, tempo de coagulação e acidez (potenciometria e titulação).

Das 200 amostras de leite testadas 2,5% apresentaram pH inferior a 6,4, 15,5% pH entre 6,4 e 6,6; 70% entre pH 6,6 e 6,8 e 12% apresentaram pH acima de 6,8. E 99% das amostras apresentaram acidez titulável entre 14 e 18°D, permitido pela IN 51 (BRASIL, 2002). A frequência das amostras de leite instáveis em 72 e 78% de etanol na solução alcoólica, respectivamente os limites preconizados como mínimo pela IN 51 (BRASIL, 2002) e aquele usado pela indústria para aceitação da matéria prima, foram de 38 e 71,5%. Amostras sem coágulo aparente e com pequenos coágulos (areia) corresponderam, respectivamente, a 20,5 e 71% das amostras. Os tempos de coagulação foram em média de $5,1 \pm 3,4$ minutos, consideravelmente mais baixo que aqueles reportados por CHAVES et al. (2004) 9,5 minutos, NEGRI (2002) $21,36 \pm 1,36$ minutos, MOLINA et al. (2001) $63,38 \pm 7,35$ segundos. É importante ressaltar que em todos os autores existe alguma diferença na técnica utilizada.

As amostras de leite com adição de citrato de sódio necessitaram maior concentração de etanol para formação de grumos 77,12 x 72,74% de etanol na mistura, $P < 0,0001$) e maior tempo de exposição ao calor até apresentarem coagulação visível (5,75 x 4,45 minutos, $P < 0,0066$), e apresentaram menor intensidade de formação de grumos (1,68 x 2,14, $P < 0,0001$). A adição de citrato reduziu a frequência das amostras com estabilidade igual ou menor a 72% e aumentou significativamente a frequência daquelas estáveis em concentrações superiores a 78% ($P < 0,0001$). Das 100 amostras sem adição de citrato, 55 e 11 % coagularam no teste do álcool com concentrações, respectivamente, até 72 e superior a 78%, enquanto que das 100 amostras com adição de citrato 21 e 46% coagularam no teste do álcool com concentrações, respectivamente,

até 72 e superior a 78%.

A concentração de álcool necessária para a formação de grumos se correlacionou moderadamente com o TC (n=200, r=0,21, P<0,01), enquanto o TC se correlacionou negativamente com a intensidade de formação de grumos durante o teste do álcool (n=200, r= -0,20, P<0,01). A intensidade de precipitação foi negativamente correlacionada com a concentração necessária para induzir a coagulação (n=200, r= -0,76, P<0,05) e positivamente correlacionada com a acidez titulável (n=200, r= 0,17, P<0,05), mas não apresentou correlação significativa com o pH.

O aumento da estabilidade térmica e no teste do álcool com a adição de citrato era esperado em função da ação sequestrante do cálcio iônico pelo citrato de sódio (FOX, 1991; ÓRDOÑEZ et al., 2005). Todavia sua ação foi relativamente ineficaz em melhorar a estabilidade do leite no teste do álcool nos níveis exigidos por muitas indústrias, superior a 78%.

O valor baixo a moderado da correlação entre a concentração de etanol, necessária para a coagulação e o tempo de coagulação em banho de óleo a 145 °C coincide com os resultados obtidos por CHAVEZ et al. (2004), NEGRI (2002) e MOLINA et al. (2001), sugerindo que, embora usados para prever a estabilidade térmica do leite na indústria, esses testes são influenciados por fatores parcialmente distintos.

A baixa correlação entre os testes do álcool e do tempo de coagulação alerta para os riscos de se estimar a capacidade do leite de suportar o processamento térmico a partir do teste do álcool. Segundo SINGH (2004), nenhum desses métodos rápidos como teste do álcool, TC, entre outros, estima adequadamente o comportamento do leite sob processamento térmico dentro da indústria. Entre os argumentos usados pra a manutenção do teste do álcool estão: a sua boa capacidade de detectar amostras com problemas de excesso de acidez, leite colostrado, leite mastítico, presença elevada de

microorganismos, leite proveniente de vacas com lactação avançada e/ou doentes (SOMMER & BINNEY, 1922; BARROS et al., 1999). Todavia a simples execução do teste não diferencia esses fatores, não contribuindo para a sua identificação ou prevenção. Outro fator ainda mais grave, o teste do álcool sinaliza como leite a ser descartado aqueles sem problemas de acidez excessiva e/ou contagem microbiana elevada, mas que apresentam alterações na concentração e proporção de minerais e íons, por sua vez decorrentes de várias causas, na maioria das vezes desconhecida, não previsível e não controlável pelos produtores (SOMMER & BINNEY, 1922).

A adição de citrato aumentou a estabilidade do leite em ambos os testes usados para estimar a sua estabilidade térmica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Cooperativa Agropecuária Petrópolis LTDA (Piá), pela ampla colaboração durante a execução desse e de tantos outros experimentos.

REFERÊNCIAS

BARROS, L. et al. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, v.9, 315p. 1999.

BASTOS, M. S. R. Leite longa vida UHT: Aspectos do processamento e identificação dos pontos críticos de controle. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 66/67, p32 – 36, 1999.

BRASIL, **Portaria nº 379**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1997.

_____, **Instrução Normativa nº 51**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2002.

CHAVEZ, M. et al. Estabilidad térmica y al alcohol de leche cruda de tanque en relación con el ingreso al ordeño de vacas despues del parto. **Revista Argentina de Producción Animal**. v. 24, 2004.

DONATELE, D.M. et al. Estudo da relação da prova do álcool 72% (v/v) com pH, grau Dornic e contagem de células somáticas do leite de vacas do município de campos do Goytacazes, RJ In: **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária – CONBRAVET**, 28., Brasília, Anais... Brasília, 2001.

FOX, P. F. **Food chemistry**. Part. III. Cork: Cork University College, 1991. 201p.

HOLM, G.E. et al. The heat coagulation of milk: variations in the compositions, heat stability, and other tests of milks from four cows during the course of a lactation period. 1932.

HORNE, D.S.; MUIR, D.D. Alcohol and heat stability of milk protein. **Journal of Dairy Science**. v.73, p.3613-3626, 1990.

LOPES, L.C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido(LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo**. 2008. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Zootecnia e Engenharia dos Alimentos. Universidade de São Paulo – USP. São Paulo. 2008.

MARQUES, L.T. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira Agrociência**. v. 13, n. 1, p.91-97, 2007.

MARTINS, A. M. C. V. et al. Efeito do processamento térmico UAT (ultra alta temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. **Ciência e Tecnologia dos alimentos**, Campinas, v. 2 n. 28, p295 – 298, 2008.

MOLINA, L.H.; et al. Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. **Archivos de Medicina Veterinaria**. nº 2, vol 33, Valdivia: Chile. 2001.

NEGRI, L. **Estúdio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre la estabilidad térmica**. 2002. 180f. Dissertação (Magíster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos) – Universidad Nacional del Litoral – Facultad de Ingeniería Química. Rafaela, AR. 2002.

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

PHILIPPE, M. et al. Physicochemical characterization of calcium-supplemented skim Milk. **Lait**. Le Ulis, v. 83, p.45-59, 2003.

ROMA JÚNIOR, L.C. et al. Efeito de diferentes tipos de fraudes sobre os componentes do leite e influência nos programas de pagamento de qualidade. **In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2007, Jaboticabal. 44ª Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Viçosa : SBZ, 2007.

SALAÜN, F. et al. Buffering capacity of dairy products. **International Dairy Journal**. v. 15, p.95–109, 2005.

SILVA, P. H. F. da. Leite UHT: **Fatores determinantes para a sedimentação e geleificação**. Juiz de Fora, MG, 2004. 128p.

SINGH, H. Heat Stability of Milk. **International Journal of Dairy Technology**. v. 57, n 2/3, 111 – 119. 2004.

SOMMER, H.H. & BINNEY, T.H. Study of the factors that influence the coagulation of milk in the alcohol test. **TESIS**. Master of Science in the graduate school of the University of Wisconsin, 1922.

ZANELA, M.B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do sul, ocorrência e indução experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA)**. Pelotas, 2004. 143f. Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção Animal) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel, 2004.

_____. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivos Brasileiros de Veterinária e Zootecnia**. v.61, n.4, p.1009-1013, 2009.

CAPÍTULO VI

Percentual de lactose em leite cru determinada por duas técnicas analíticas¹

¹ Nota técnica sob as normas da Revista Ciência Rural – Anexo 2

Percentual de lactose em leite cru determinada por duas técnicas analíticas

Sandro Charopen Machado¹, Vivian Fischer², Thais Schilling de Ávila³, Ana Carolina Deuner⁴, Gisele Maria Menezes Ribeiro Kosminsky⁵, Vitório Viero⁶

- NOTA -

RESUMO

Levantamentos na qualidade do leite, realizados em diferentes regiões do país, mostram valores abaixo daqueles considerados normais, entre 4,5 a 4,7. Objetivou-se avaliar a concentração de lactose em leite cru, utilizando duas técnicas analíticas distintas. Para o estudo foram utilizadas 22 amostras de leite, as quais foram divididas em duas alíquotas, sendo que a primeira foi destinada ao laboratório do Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros (SARLE) para a análise da composição de lactose por espectroscopia de reflectância no infravermelho (técnica NIRS) e, a segunda alíquota foi destinada ao laboratório de Bromatologia do Centro Universitário Feevale para análise enzimática com colorimetria (técnica COLOR). A análise estatística foi realizada de acordo com o delineamento completamente casualizado, testando o efeito da metodologia, mês e sua interação, com o programa SAS (2001), executando os Procedimentos GLM, CORR e REG. Os valores médios de lactose foram $4,39 \pm 0,11$ e $4,39 \pm 0,08$, respectivamente usando as técnicas NIRS e COLOR, as quais não diferiram entre si, sendo altamente correlacionadas ($n=22$, $r=0,90$, $P>F=0,0001$). Não houve efeito de mês nem sua interação ($P>0,05$). Os valores encontrados são considerados baixos em relação aqueles normalmente considerados com aceitáveis, entre 4,5 e 4,7. Conclui-se que a técnica do NIRS pode continuar a ser realizada e seus valores são similares aos da técnica analítica. Os baixos valores encontrados no Brasil não foram explicados pelo tipo de análise desse componente, mas podem estar relacionados aos valores elevados contagem de células somáticas e contagem bacteriana total e/ou nível de atendimento nutricional insuficiente do rebanho.

¹ Aluno de Doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). charopen@gmail.com

² Orientadora do programa de Doutorado em Zootecnia - UFRGS

³ Aluna de Farmácia no Centro Universitário Feevale - Novo Hamburgo-RS

⁴ Aluna de Nutrição no Centro Universitário Feevale - Novo Hamburgo-RS

⁵ Professora Mestre do Curso de Nutrição no Centro Universitário Feevale - Novo Hamburgo-RS

⁶ Médico Veterinário Mestre pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Palavras-chave: colorimetria, NIRS

Percentage of lactose in milk determined by two analytical techniques

ABSTRACT

Surveys on milk quality, made in different regions of the country, show values below those considered normal, between 4.5 to 4.7. Aimed to evaluate the concentration of lactose in milk, using two different analytical techniques. For this study we used 22 milk samples, which were divided into two portions, the first of which was intended for the laboratory of the Department of Dairy Herd Analysis (SARL) to analyze the composition of lactose by reflectance spectroscopy in the infrared (Technical NIRS) and the second aliquot was intended for the laboratory of Food Science University Center for Feevale with enzymatic colorimetry (technical COLOR). Statistical analysis was performed according to completely randomized design, testing the effect of the methodology, months and its interaction with the SAS (2001), performing the procedures GLM, CORR and REG. The average values of lactose were 4.39 ± 0.11 and 4.39 ± 0.08 , respectively, using the techniques and NIRS COLOR, which did not differ, being highly correlated ($n = 22$, $r = 0.90$, $P > F = 0.0001$). There was no effect of months or their interaction ($P > 0.05$). The values found are considered low compared with those normally considered acceptable, between 4.5 and 4.7. It that the NIRS technique can still be performed and their values are similar to the analytical technique. The low levels found in Brazil were not explained by an analysis of this component, but may be related to elevated somatic cell count and count Total bacterial and level of inadequate nutritional care of the flock.

Key words: colorimetric, NIRS

A lactose é o principal carboidrato componente do leite, responsável pelo sabor adocicado que este apresenta, entretanto ela apresenta um sabor pouco doce quando isolada e pode ser separada do leite por apresentar a característica de cristalização, compondo em torno de 5% do leite bovino (KOBELITZ, 2008).

A lactose é sintetizada no interior do complexo de Golgi e necessita de duas moléculas de glicose, das quais uma é transformada em galactose, a partir da ação da enzima lactose sintetase. Da glicose que entra na célula secretora, 60 a 70% são destinadas à síntese de lactose, o restante é utilizado como fonte de energia para a produção dos demais componentes do leite (FONSECA & SANTOS, 2000). De acordo com GONZÁLEZ (2001), a lactose é a principal responsável 50% do efeito osmótico responsável pelo volume de leite produzido. Além disto, esse componente é o que apresenta a menor variação na composição de acordo com o período de lactação.

A concentração de lactose varia entre 4,6 a 5,0% (ÓRDOÑEZ et al., 2005; GONZÁLEZ, 2001), essa variação normalmente está relacionada ao indivíduo e raça, mas é pouco influenciada pelo estágio de lactação. Ao contrário dos demais macrocomponentes do leite, os níveis mínimos de lactose não são determinados pela Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002). Todavia trabalhos, realizados na região sul do RS por MARQUES et al. (2007); ZANELA et al. (2006), VIERO (2008) e por FRUSCALSO (2007) na região noroeste do Rio Grande do Sul, encontraram níveis inferiores aos descritos pela bibliografia em geral. Isto também se repete em trabalhos realizados nos estados de Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte (LIRA, 2007) e também em São Paulo (LOPES, 2008).

Os principais métodos de determinação da lactose são com o uso de HPLC, o método de Lane-Eynon (gravimétrico) e o método Infravermelho. De acordo com o AOAC - *Association of Official Analytical Chemists* - (2002), além desses ainda há o teste enzimático com determinação por colorimetria para a determinação da lactose, sendo esse utilizado no laboratório de Bromatologia da Feevale.

Este estudo teve o objetivo de avaliar a concentração de lactose no leite bovino cru segundo dois métodos analíticos distintos: NIRS e enzimático + colorimetria,

mensuradas durante dois meses. Foram analisadas 22 amostras de leite provenientes de unidades de produção leiteira (UPL) fornecedoras de leite na região nordeste do RS. As amostras foram coletadas em setembro e outubro de 2009, utilizando o modelo de coleta, transporte e conservação realizado pela indústria para a análise do leite a ser processado. Inicialmente, as amostras de leite foram avaliadas quanto às suas características físicas: pH, acidez por titulação, teste do álcool e tempo de coagulação. Posteriormente, as amostras foram separadas em duas alíquotas: a primeira foi encaminhada ao laboratório do Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros (SARLE) em Passo Fundo-RS para análise por espectroscopia de reflectância no infravermelho (técnica NIRS) e a segunda alíquota permaneceu no laboratório de Bromatologia do Centro Universitário Feevale para análise por método enzimático com determinação colorimétrica (técnica COLOR).

A análise estatística foi realizada de acordo com o delineamento completamente casualizado, as amostra de leite de cada UPL se constituíram em unidades experimentais, testando o efeito da metodologia ($n=2$), mês ($n=2$) e interação mês e metodologia, com o programa SAS (2001), executando os Procedimentos GLM, CORR e REG. Adotou-se com nível máximo de probabilidade o valor de 0,05.

Não houve efeito significativo para os efeitos de metodologia, meses de coleta e interação entre método de análise e mês de coleta ($P<0,05$). Os valores médios da porcentagem de lactose foram $4,11\pm 0,02$ e $4,37\pm 0,02$, respectivamente para os meses de setembro e outubro e $4,39\pm 0,11$ e $4,39\pm 0,08$, respectivamente usando as técnicas NIRS e COLOR. Os valores de lactose das duas técnicas foram altamente correlacionados ($n=22$, $r=0,90$, $P>F=0,0001$). SILVEIRA et al. (2004) também não verificaram diferenças entre métodos analíticos distintos.

Os resultados da concentração de lactose desse estudo são considerados baixos em

relação aos valores normalmente considerados com aceitáveis, entre 4,5 e 4,7 (GONZÁLEZ, 2001; ÓRDOÑEZ et al., 2005), mas são similares aos descritos por MARQUES et al. (2007), VIERO (2007), ZANELA et al. (2006). Estes resultados abaixo do normal podem estar relacionados ao elevado número de contagem bacteriana que utilizam esse componente com substrato para processos fermentativos (BUENO et al., 2008), diminuição da síntese desse carboidrato pela célula secretora (FONSECA & SANTOS, 2000), ou passagem de lactose do leite para o sangue, através do aumento da permeabilidade nas junções paracelulares do epitélio mamário (STELWAGEN et al., 2000).

Conclui-se que a técnica do NIRS pode continuar a ser realizada e seus valores são similares aos da técnica analítica. Os baixos valores encontrados no Brasil não foram explicados pelo tipo de análise desse componente, mas podem estar relacionados aos valores elevados contagem de células somáticas e contagem bacteriana total e/ou nível de atendimento nutricional insuficiente do rebanho.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Cooperativa Agropecuária Petrópolis LTDA (Piá), pela ampla colaboração durante a execução desse e de tantos outros experimentos durante o período do programa de doutoramento.

REFERÊNCIAS

ABREU, A.S. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas jersey**. 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2008.

BRASIL, Instrução Normativa 51. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2002.

BUENO, V. F. F. et al. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e o período do ano no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v. 15, n. 1, p. 40-44, 2008.

DÜRR, J.W. Determinação laboratorial dos componentes do leite. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a**

- nutrição e metabolismo de vacas leiteiras.** Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. p.44-57.
- FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite.** São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.
- FRUSCALSO, V. **Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência de leite instável ao ácido.** 2007. 147f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2007.
- 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.** Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. p.44-57.
- KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas.** Editora LAB, Ed. 1. 2008. 256p.
- LIRA, A.V. **Contagem de células somáticas e composição do leite cru resfriado nos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte.** 2007, 56f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Universidade Federal Rural de Pernambuco – Recife-PE, 2007.
- LOPES, L.C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo.** 2008. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP – São Paulo-SP, 2008.
- MARQUES, L.T. Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos. 2004.
- ORDÓÑEZ, J. A.; et al. **Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos.** Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005. 279p.
- SILVEIRA, T.M.L. et al. **Comparação entre os métodos de referência e a análise eletrônica na determinação da composição do leite bovino.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.56, n.6, p.782-787, 2004.
- STELWAGEN, K. et al. **Short Communication: Effects of isolation stress on mammary tight junctions in lactating dairy cows.** J. Dairy Sci, n. 83, 48-51p, 2000.
- VIERO, V. **Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido.** 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2008.
- ZANELA, M. B. et al. Qualidade do leite em sistemas de produção na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** v. 41, n.1, p. 153-159, 2006.

CAPÍTULO VII

Efeito do uso de capilares com diferentes medidas sobre o resultado do tempo de coagulação de leite cru¹

¹ Nota técnica sob as normas da Revista Ciência Rural – Anexo 2

Efeito do uso de capilares com diferentes medidas sobre o resultado do tempo de coagulação de leite cru

Effect of capillaries with different measures on the outcome of the coagulation time of raw milk

Sandro Charopen Machado¹, Vivian Fischer², Thais Schilling de Ávila³, Luis Henrique Sandri⁴, Luis Eduardo Sandri⁴, Alexandre Susenbach de Abreu⁵

- NOTA -

RESUMO

Avaliou-se o efeito do uso de diferentes tamanhos de capilares sobre o tempo de coagulação do leite submetido ao banho de óleo a uma temperatura de 145°C. A necessidade de tratamento térmico para a manutenção da inocuidade do leite gerou a busca por matéria prima com maior capacidade de suportar tratamentos térmicos com altas temperaturas. O teste de coagulação no tanque (TCT) é um método subjetivo de avaliação da estabilidade térmica do leite, e essa subjetividade pode ser demonstrada nos fatores que determinam a variação de resultados, entre os quais se pode citar o tamanho dos capilares utilizados no teste. Foram realizadas análises de oitenta amostras de leite em dois capilares de tamanhos diferentes: 120 mm de comprimento, 0,15 mm de diâmetro externo e 0,08 mm de diâmetro interno, sendo esse o capilar grande (TCTg); o segundo capilar media 80 mm de comprimento, 0,16 mm de diâmetro externo e 0,14 mm de diâmetro interno, capilar pequeno (TCTp). O leite foi analisado quanto a acidez, estabilidade ao álcool (68 a 80% v/v) e fervura. Os dois capilares foram cheios no mesmo momento deixando, proporcionalmente, o mesmo espaço entre a amostra e a extremidade fechada do capilar (8%). Após, os dois capilares eram submersos ao mesmo tempo no banho de óleo a 145°C e avaliado o tempo de formação de coágulo na amostra. Houve correlação positiva entre os dois capilares utilizados (n= 80, r= 0,54, P>0,0001), entretanto houve diferença significativa entre os tempos de

¹ Aluno de Doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). charopen@gmail.com

² Orientadora do programa de Doutorado em Zootecnia - UFRGS

³ Aluna de Farmácia no Centro Universitário Feevale - Novo Hamburgo-RS

⁴ Aluno de biomedicina no Centro Universitário Feevale - Novo Hamburgo-RS

⁵ Professor Mestre do Curso de Veterinária da Faculdade de Itapiranga – Itapiranga - SC

coagulação dos dois capilares, sendo que TCTp necessitou de maiores tempos para a floculação ($6,95 \pm 2,43$ minutos) do que o TCTg ($5,41 \pm 2,46$ minutos). Dessa forma, conclui-se que o tamanho do capilar tem interferência no resultado final de tempo de coagulação de amostras de leite cru.

Palavras-chave: Estabilidade térmica, Qualidade, Tempo de coagulação

ABSTRACT

Evaluated the effect of using different sizes of small glass tube on the clotting time of milk before the oil bath at a temperature of 145 °C. The need for heat treatment to maintain the safety of milk led the search for raw materials with greater capacity to withstand heat treatments at high temperatures. The coagulation test tank (TCT) is a subjective method for evaluating the thermal stability of milk, and that subjectivity can be demonstrated in the factors that determine the variation of results, among which can mention the size of the capillaries used in the test. Analysis were made of eighty samples of milk in two capillaries of different sizes: 120 mm long, 0.15 mm outside diameter and 0.08 mm internal diameter, which is the big capillary (TCTg), the second capillary media 80 mm long, 0.16 mm outside diameter and 0.14 mm internal diameter, capillary small (TCTP). The milk was analyzed for acidity, stability alcohol (68 to 80% v/v) and boiling. The two capillaries were filled at the same time leaving proportionally the same space between the sample and the closed end of the capillary (8%). After the two capillaries were submerged at the same time in an oil bath at 145 ° C and evaluated the time of clot formation in the sample. Correlations between the two capillaries used ($n = 80$, $r = 0.54$, $P > 0.0001$), however significant difference between the clotting times of two capillaries, and TCTP require more time for flocculation (6.95 ± 2.43 minutes) than the TCTg (5.41 ± 2.46 minutes). Thus, it appears that the size of the capillary is interference in the end result of the coagulation time of raw milk samples.

Keywords: Thermal stability, quality, clotting time

Atualmente no Brasil, de acordo com a Associação Brasileira de Leite Longa Vida (ABLV) o consumo de leite UHT (*ultra high temperature*) tem aumentado

consideravelmente, sendo que esse perfil de consumo determinou um incremento desse tipo de processamento e, dessa forma, aumentou a demanda por uma matéria prima de elevada qualidade, não só do ponto de vista microbiológico bem como do ponto de vista físico-químico.

A baixa qualidade microbiológica do leite faz com que se tenha que utilizar métodos de conservação com o uso de dois processamentos térmicos, como é o caso da pasteurização e o UHT e, esse tipo de ação interfere fortemente na qualidade do produto final (PRATA, 1998).

Com o objetivo de se avaliar a estabilidade térmica do leite, que é a capacidade que esse tem de suportar altas temperaturas sem a formação de grumos, utiliza-se de diferentes técnicas para estimar o efeito do calor sobre a estabilidade protéica do leite e, essas técnicas podem ser tanto subjetivas quanto objetivas (SINGH, 2004).

Mesmo utilizando testes para avaliar a estabilidade térmica do leite, nenhum deles tem boa capacidade de prever os efeitos que ocorrerão durante o processamento UHT (NEGRI et al., 2003); havendo uma baixa correlação entre os testes para aferir a estabilidade térmica do leite, tais como o teste de sedimentação da proteína, viscosidade, teste do álcool que são testes subjetivos e o teste em plantas piloto que é um teste objetivo, sendo que esse último afere um resultado mais condizente com os efeitos na planta UHT normal da indústria (SINGH, 2004).

O teste de tempo de coagulação no tanque (TCT) é um método utilizado por NEGRI (2002), modificado de DAVIES & WHITE (1966) em que se submerge um capilar de vidro em banho óleo aquecido a uma temperatura que varia de 140 a 145°C, dependendo especificamente da técnica que será utilizada.

Neste experimento se objetivou avaliar o efeito de diferentes medidas de capilares sobre o tempo de coagulação (TC) a partir da submersão do leite em glicerina aquecida

a 145°C, sendo essa temperatura utilizada pelo fato de ser a temperatura dos processos U.H.T. atualmente. Para isso, na chegada da amostra de leite no laboratório se procedia análises de acidez por pontenciometria e por titulação utilizando solução de Dornic, para a configuração de leite não ácido. Após se procedia ao teste do álcool em concentrações de 68 a 80% v/v com intervalo de dois. Feitos os testes, o leite era colocado em dois capilares de vidro o primeiro, com medidas de 120mm de comprimento, 0,15mm de diâmetro externo e 0,08mm de diâmetro interno, sendo esse o capilar grande (TCTg); o segundo capilar media 80mm de comprimento, 0,16mm de diâmetro externo e 0,14mm de diâmetro interno, capilar pequeno (TCTp), sendo que os dois capilares era enchidos e fechados ao mesmo tempo e os dois capilares apresentavam a mesma distância, proporcionalmente, entre a amostra e as extremidades fechadas.

Após, as amostras foram submersas, ao mesmo tempo, em um banho de óleo com glicerina aquecida a 145°C e se determinava o tempo do aparecimento do primeiro coágulo no leite, sendo esse considerado o tempo de coagulação (TC).

Para análise estatística se utilizou o programa SAS (2001), através dos Procedimentos CORR e REG para pH, acidez, álcool relacionados com os métodos de tempo de coagulação e para avaliar a variância entre os dois tipos de capilares.

De acordo com os dados levantados, observou-se correlação positiva entre os testes realizados com os dois tipos de capilares ($n= 80$, $r= 0,54$, $P>0,0001$) expressando que desenvolvimento do processo nos dois tipos de capilares se apresentam de forma igual, entretanto houve diferença significativa entre os tempos de coagulação dos dois capilares, sendo que TCTp necessitou de maiores tempos para a floculação ($6,95 \pm 2,43$ minutos) do que o TCTg ($5,41 \pm 2,46$ minutos).

A diferença de tempo, maior para o capilar pequeno, pode ser explicada pela

quantidade de amostra que contém o capilar, determinando uma menor velocidade de transferência de calor para a matéria prima. Outro para explicação dessa diferença seria que, mesmo deixando espaços iguais proporcionalmente (8%) entre a amostra e a extremidade fechada do capilar, a área contendo oxigênio é maior no capilar pequeno por ter uma largura interna um pouco maior. Deve-se ressaltar que em qualquer tipo de capilar, observou-se pouca praticidade para a realização da técnica e a possibilidade da interferência no resultado final, a partir da subjetividade da avaliação.

O tempo de coagulação do leite no capilar apresenta uma grande variação, de vários minutos (NEGRI, 2002; CHAVEZ et al., 2001; PAEZ et al., 2006) até alguns segundos (MOLINA et al., 2001), considerando sempre que no TCT, pequenas variações nas técnicas podem interferir nas diferenças do resultado final (SINGH & CREAMER, 1992; SINGH, 2004). Variação na velocidade de agitação do óleo ou do capilar, dependendo da técnica, além disso, o volume de amostra e o espaço entre a amostra e a extremidade do capilar, vão interferir na velocidade de transferência de calor do óleo para a amostra, o que vai acabar interferindo no resultado final da análise (DAVIES & WHITE, 1966). A diferença de pressão sobre a amostra de leite pode interferir no tempo de coagulação do leite (SOMMER & HART, 1919).

O tamanho do capilar tem interferência no resultado final de tempo de coagulação de amostras de leite cru.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Cooperativa Agropecuária Petrópolis LTDA (Piá), pela ampla colaboração durante a execução desse e de tantos outros experimentos durante o período do programa de doutoramento.

REFERÊNCIAS

CHAVES, M. et al. Factores que afectan el resultado de la prueba del alcohol en leches con bajos recuentos de bacterias viables. In: 24° Congreso Argentino de Producción Animal. **Anais...** Rafaela-AR. 2001.

DAVIES, D.T. e WHITE, J.C.D. The stability of milk protein to heat. **Journal of Dairy Research** n. 33, p.67-71, 1966.

MOLINA, L.H.; et al. Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. **Archivos de Medicina Veterinária**. nº 2, vol 33, Valdivia: Chile. 2001.

NEGRI, L. **Estúdio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre la estabilidad térmica**. 2002. 180f. Dissertação (Magíster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos) – Universidad Nacional del Litoral – Facultad de Ingeniería Química. Rafaela, AR. 2002.

Negri, L., et al. Determinación de las variables que afectan la estabilidad térmica de la leche utilizando un método capilar para evaluar el tiempo de coagulación por calor. **Revista Argentina de Lactología**. nº 22-33-44, 2003.

PAEZ, R. et al. Estudio de la estabilidad térmica y al alcohol durante los días pos-parto en leche cruda de vaca. In: 9° Congresso Panamericano do Leite. **Anais...** Porto Alegre-RS. 2006.

PRATA, L. F. Leite UHT: solução ou problema? Uma análise da situação. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 54, p. 10-15, 1998.

SINGH, H. Heat Stability of Milk. **International Journal of Dairy Technology**. v. 57, n 2/3, 111 – 119. 2004.

SOMMER, H.H. & HART, E.B. The heat coagulation of milk. **Department of Agricultural Chemistry, University of Wisconsin**. P. 137 - 151, 1919.

CAPÍTULO VIII

O efeito da temperatura do leite sobre o resultado do teste do álcool¹

¹ Nota técnica sob as normas da Revista Ciência Rural – Anexo 2

O efeito da temperatura do leite sobre o resultado do teste do álcool

The effect of temperature of milk on the test result of alcohol

Sandro Charopen Machado¹, Vivian Fischer², Thais Schilling de Ávila³, Vitório Viero⁴, Alexandre Susenbach de Abreu⁴

- NOTA -

RESUMO

Fez-se a avaliação da temperatura da amostra de leite sobre o resultado final do teste do álcool. A partir do Programa Nacional de Qualidade do Leite, se utilizou métodos analíticos com o objetivo de avaliar a qualidade da matéria prima a ser industrializada, entre os quais está o teste do álcool que, de acordo com a legislação brasileira, deve ser usado na propriedade com o objetivo de aceitar ou descartar o leite, em uma concentração mínima de 72% v/v. Com isso, passou-se a discutir o efeito da temperatura do leite no momento do teste do álcool, uma vez que a matéria prima deve ser mantida a uma temperatura de 4°C. Foram analisadas 130 amostras de leite em temperaturas de 4 e 20°C, sendo que previamente o leite era analisado quanto a acidez titulável para descartar amostras que estivessem fora do padrão determinado (14 – 18° D). As amostras foram analisadas no teste do álcool utilizando diferentes concentrações (68 à 80% v/v, com intervalo de dois) e, se observava a concentração necessária para formação de grumos (areia). O tratamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e cento e trinta repetições. Para análise estatística se utilizou o pacote estatístico SAS (2001) usando os procedimentos GLM e CORR. A temperatura não interferiu no resultado final do teste do álcool, não havendo diferença significativa para concentração de álcool em diferentes temperaturas (4°C, n= 130, μ = 74,46; 20°C, n=130, μ = 74,33, $Pr > 0,0001 = 0,8421$). Houve uma correlação positiva entre o teste do álcool e o grau de acidez titulável das amostras analisadas (n=260, $r = -0,60$, $p < 0,0001$). A temperatura do leite não teve interferência no resultado final do teste do álcool.

¹ Aluno de Doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). charopen@gmail.com

² Orientadora do programa de Doutorado em Zootecnia - UFRGS

³ Aluna de Farmácia no Centro Universitário Feevale - Novo Hamburgo-RS

⁴ Médico Veterinário Mestre UFRGS.

Palavras-chave: Estabilidade, qualidade, concentração de álcool

ABSTRACT

There was the evaluation of the temperature of the milk sample on the final test of the alcohol. From the National Milk Quality, was used analytical methods to evaluate the quality of raw material to be industrialized, among which stands the test of alcohol, according to Brazilian law, must be used in property in order to accept or discard the milk, at a minimum concentration of 72% v / v. With that, we started to discuss the effect of temperature of milk during the test for alcohol, since the raw material should be kept at a temperature of 4°C. We analyzed 130 samples of milk at temperatures of 4 and 20°C, and the milk was previously analyzed for acidity to discard samples that were outside the standard pattern (14 - 18 D). The samples were analyzed in the alcohol test using different concentrations (68 to 80% v / v, with an interval of two), and occurred in a concentration necessary for formation of lumps (sand). The treatment completely randomized design with two treatments and-thirty repetitions. For statistical analysis we used the statistical package SAS (2001) using the procedures GLM and CORR. The temperature did not affect the outcome of the test for alcohol, no significant difference in alcohol concentration at different temperatures (4°C, n = 130, $\mu = 74.46$; 20°C, n = 130, $\mu = 74.33$, $Pr > 0.0001 = 0.8421$). There was a positive correlation between test alcohol and the degree of acidity of the samples (n = 260, r = - 0.60, p < 0.0001). The temperature of the milk did not adversely affect the final result of the alcohol test.

Keywords: Stability, quality, concentration of alcohol

A produção de leite tem se desenvolvido em todos os aspectos, tanto sob o ponto de vista de produtividade, como no desenvolvimento e produção de derivados, necessitando, dessa forma, de uma matéria prima de qualidade que suporte os efeitos

danosos do tratamento térmico. A partir de 1996 se desenvolveu o Programa Nacional de Qualidade do Leite (PNQL) com o objetivo de buscar essa qualidade para a matéria prima a ser industrializada.

A Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002) determina o teste do álcool como uma das principais análises utilizadas para o descarte ou não do leite, sendo que, a legislação determina um mínimo de 72% v/v de concentração de álcool e a indústria tem utilizado concentrações maiores com o objetivo de avaliar a capacidade do leite de suportar o tratamento térmico do U.H.T. Essa capacidade de avaliar a estabilidade térmica do leite é contestada, por não se demonstrar uma correlação entre os valores de concentração de álcool necessária para precipitação do leite e a sua capacidade de suportar o efeito térmico (MOLINA et al., 2001; NEGRI, 2002), principalmente se essa instabilidade não for gerada por problemas de pH (HORNE & MUIR, 1990). A partir da discrepância entre as concentrações utilizadas pela indústria em relação ao preconizado pela legislação leva a um grande descarte de matéria prima que estaria apta a industrialização e consumo (SHILTON et al., 1992).

O álcool age alterando a constante dielétrica e, portanto, acaba eliminando a capacidade de repulsão das micelas de caseína o que aumenta a possibilidade de sedimentação protéica do leite (HORNE & PARKER, 1981).

Sugere-se que temperatura do leite a ser testado pode interferir no resultado final do teste do álcool, onde quanto menor a temperatura do leite, menor a concentração necessária para a formação de grumos (COSTA et al., 2004).

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da temperatura do leite sobre o resultado do teste do álcool. Para isso foram analisadas 130 amostras de leite cru e inicialmente se fez os testes de qualidade do leite, acidez por titulação, com o objetivo de descartar amostras que estivessem fora dos padrões determinados pela IN 51 (14 –

18° D). Em seguida dividiu-se a amostra em duas alíquotas sendo que uma era mantida refrigerada a uma temperatura de 4°C e a outra era acrescida em temperatura, de forma natural, até chegar aos 20°C, quando se realizava novamente os testes de acidez por titulação para descartar variações grandes de pH. As amostras foram analisadas no teste do álcool utilizando diferentes concentrações (68 à 80% v/v, com intervalo de dois) e se observava a concentração necessária para mínima formação de grumos (areia). O tratamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e cento e trinta repetições. Para análise estatística se utilizou o pacote estatístico SAS (2001) usando os procedimentos GLM e CORR.

Pode-se observar que não houve diferença significativa entre os resultados do teste do álcool nas diferentes temperaturas (tabela 1):

Tabela 1: Comparação entre as médias da concentração de álcool em relação as temperaturas das amostras.

Temperaturas	n	% médio de álcool	Pr>0,0001
4°C	130	74,46	0,8421
20°C	130	74,33	

A temperatura não interferiu no resultado final do teste do álcool. Discordando de trabalhos realizados que acharam diferença significativa para temperatura, ao analisar 55 amostras, determinando inclusive que quanto maior a temperatura do leite, mais estável ao álcool ele se torna, (COSTA et al., 2004). Deve-se observar que na prática os produtores relatam o contrário, sempre que necessita mais estabilidade, eles dão mais tempo de frio à matéria prima.

A temperatura do leite apresenta pouca interferência no resultado do teste do álcool, estando muito mais vinculado a problemas de acidificação, considerando que 20°C seria o início da temperatura de conforto para microrganismos deterioradores que utilizaria a lactose como substrato, produzindo ácidos (TORTORA et al. 2005), assim como o desequilíbrio salino do leite (HORNE, 1987; AUGUSTIN & CLARKE, 1990).

Ressalta-se ainda, que o leite deve chegar à temperatura de 4°C em um tempo de 3 horas pós ordenha (BRASIL, 2002) o que inviabiliza a realização do teste do álcool a uma temperatura acima dessa.

Observou-se uma correlação negativa entre o teste do álcool e a acidez do leite ($n=260$, $r=-0,60$, $p<0,0001$), demonstrando que a acidez se expressa de maneira inversa a concentração de álcool necessária para a formação de grumos.

A mudança da acidez do leite, mesmo dentro dos padrões normais, determina uma mobilização dos minerais da forma agregada para a forma livre, principalmente o cálcio (SINGH, 2004; HORNE & MUIR, 1990), o que diminui a necessidade de concentração de álcool para formação de grumos no teste do álcool.

A temperatura da matéria prima não interferiu no resultado final do teste do álcool, devendo estar essa interferência relacionada a outros fatores como composição química e equilíbrio salino.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Cooperativa Agropecuária Petrópolis LTDA (Piá), pela ampla colaboração durante a execução desse e de tantos outros experimentos durante o período do programa de doutoramento.

REFERÊNCIAS

AUGUSTIN, M.A.; CLARKE, P.T. **Effects of added salts on the heat stability of recombined concentrated milk**. Journal of Dairy Research 57. 213–226, 1990.

BRASIL, Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa no 51** de 18 de setembro de 2002. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, Qualidade, Coleta e Transporte de Leite. Diários Oficiais da União, Brasília, 39p, 2002.

COSTA, F.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.

HORNE, D.S. **Ethanol stability of casein micelles a hypothesis concerning the role of calcium phosphate.** Journal of Dairy Research. n. 54, p.389-395, 1987.

HORNE, D.S. & MUIR, D.D. Alcohol and heat stability of Milk protein. **Journal of dairy research.** v. 46, n. 3, p.433-439, 1990.

HORNE, D.S.; PARKER, T.G. **Factors affecting the ethanol stability of bovine milk IV. Effect of fore warming.** Journal of Dairy Research. n.48, p.405-415, 1981.

MOLINA, L.H.; GONZÁLES, R.; BRITO, C.; CARRILLO, B.; PINTO, M. **Correlacion entre la termo estabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero.** Archivos de Medicina Veterinária, v.33, n.2, Valdivia: Chile, 2001.

NEGRI, L. **Estudio de los factores fisicoquímicos de la leche cruda que inciden sobre la estabilidad térmica.** Santa Fé - Argentina, 180f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, 2002.

SHILTON, N.; JOHNSON, A.; LEWIS, M.J. An investigation of a possible relationship between the ethanol stability of milk and the fouling of milk in an ultra high temperature process. **Journal of Society of Dairy Technology**, n.45, p.9-10, 1992.

SINGH, H. Heat Stability of Milk. **International Journal of Dairy Technology.** v. 57, n 2/3, 111 – 119. 2004.

TORTORA, G.J. et al., **Microbiologia.** Artmed: São Paulo/SP. 8 ed., 894p. 2005.

CAPÍTULO IX

9. DISCUSSÃO GERAL

A partir dos dados processados durante a execução do projeto, baseado em observações por parte do autor e pelo embasamento teórico, deve-se tecer algumas considerações, entre as quais, pode-se ressaltar:

Confusão entre os conceitos de estabilidade

Na maior parte das referências consultadas, principalmente nas mais recentes, se observa uma grande confusão entre os conceitos da estabilidade ao álcool e a estabilidade térmica, sendo muitas vezes, tratadas como um só fenômeno.

Essa confusão se inicia pelo fato de que os dois tipos de estabilidades apresentam fatores predisponentes parcialmente comuns, com destaque para o cálcio iônico, entretanto, mecanismos de desenvolvimentos distintos. Isso se dá em partes, por não haver estudos mais aprofundados no mecanismo de desenvolvimento do problema o que necessitaria de uma base muito forte na química e na física; talvez por isso, a importância de se desenvolver pesquisas transdisciplinares com essas áreas, a fim de entender o mecanismo de

desenvolvimento de cada tipo de alteração.

Além disso, quando se trata da indústria, existe outra confusão conceitual importante que é a estabilidade térmica e a estabilidade de vida de prateleira do produto, uma vez que muitos responsáveis pelo setor industrial referem como estabilidade térmica, a sedimentação que ocorre na embalagem durante a estocagem e não a coagulação que ocorre durante o processamento no equipamento.

Conflito entre indústria e produtor

A percepção a respeito da relação entre indústria e produtor, é extremamente conflituosa e boa parte desse problema está embasado na falta de clareza sobre o porquê que o leite, que muitas vezes parece adequado, está sendo rejeitado.

Inicialmente deve-se considerar que muitas vezes nem a indústria tem ao certo qual é o motivo do teste do álcool, por exemplo, passando para o produtor a idéia de que se realiza esse teste apenas com o objetivo de avaliar a acidez do leite, gerando desconfortos pelo fato de que o produtor sempre fica achando que está sendo enganado.

Ainda deve-se considerar que, quem realiza o teste do álcool na propriedade é o transportador que muitas vezes, tem pouco treinamento laboratorial e pouco tempo para a realização de um teste que, mesmo que simples, necessita de treinamento e calma no momento de executá-lo. Devendo ainda considerar que o transportador recebe por litro de leite transportado, o que faz que esse, carregue o leite mesmo que esteja inadequado, segundo o teste que foi realizado.

Tipificação da propriedade e região

Deve-se atentar cada vez mais para os estudos que visem tipificar a propriedade, o modelo de trabalho, a região, o tipo de colonização e tudo mais que envolva o setor.

Observa-se que na grande maioria dos casos, os proprietários não apresentam condição de entendimento sequer da sua propriedade e atividade, quanto mais a respeito da problemática do leite instável, trabalhando sempre de uma forma amadora, ainda embasada principalmente na aprendizagem através de gerações.

Baseado nos estudos que apresentam a tipificação das propriedades em diferentes regiões do país, observa-se uma repetição da baixa escolaridade dos produtores o que vai interferir de forma contundente na capacidade de aprendizagem por parte do produtor, por isso, seria necessário repensar os modelos de extensão que são utilizados para a disseminação de novas técnicas que visem a busca de qualidade do produto.

Importância do teste do álcool

Deve-se refletir sobre a importância que é dada ao teste do álcool dentro do setor produtivo do leite. Por ser um teste rápido, barato e de fácil execução, não deve ser totalmente descartado, entretanto deveria ser revista a possibilidade de que esse teste passe a ter a importância de selecionar o uso da matéria prima dentro da planta industrial e não de simplesmente descartar o leite, ainda mais considerando que as demais características determinadas, estão dentro dos padrões normais.

Cabe ainda ressaltar que há poucos dados preliminares e ainda

conflitantes, a respeito do efeito do LINA sobre o rendimento, características sensoriais e vida de prateleira de alguns derivados lácteos.

Importância da contagem de células somáticas e contagem bacteriana

Deve-se considerar que leites com alta contagem bacteriana apresentam mais problemas com as ações de enzimas proteolíticas que vão interferir na estabilidade da micela, entretanto essa ação é pós-tratamento térmico, formando sedimentações que muitas vezes é confundido com estabilidade térmica.

Outro ponto relevante a respeito desses fatores (CCS e CBT) é a necessidade de se realizar trabalhos de extensão mais intensos que visem à redução desses números dentro da propriedade e, por consequência dentro do setor industrial, principalmente pelo fato de que grandes perdas produtivas se dão a partir desses fatores.

O teste de tempo de coagulação

Um dos objetivos da maioria dos trabalhos é a busca por um teste específico que realmente descreva o que vai acontecer com a matéria prima ao sofrer o processamento térmico.

Um dos testes utilizados, como foi o caso desse trabalho, é o teste de tempo de coagulação no tanque. O teste se mostrou extremamente subjetivo, de difícil aplicação na rotina industrial por ser altamente trabalhoso (enchimento e fechamento de capilares), muito demorado e que necessitaria uma pessoa exclusivamente para a execução do mesmo, o que muitas vezes inviabilizaria o teste.

A questão da subjetividade do teste é ampliada, quando observamos que o teste pode apresentar uma variação muito grande no resultado final, de acordo com o equipamento utilizado, conforme o tipo e tamanho do capilar.

Além da pouca praticidade para a sua realização, ainda deve-se levar em conta, a sua real capacidade de estimar o que vai acontecer com o leite no momento do processamento térmico, ou seja, estimar a estabilidade térmica do leite, ainda mais considerando que não há um ponto de corte, onde se determine que acima desse tempo, o leite seria estável termicamente.

Possibilidades de novos estudos

Baseado nos dados trabalhados durante o experimento foi observado à necessidade de novos experimentos que visem elucidar cada vez mais a problemática, tanto para o produtor quanto para o setor industrial.

Entre essas novas possibilidades de estudos, ressalta-se:

- Avaliação da ação física da pressão sobre a micela de caseína durante o processamento térmico do leite. Nesse ponto, seria de fundamental importância a interação com pesquisadores da área da física;

- Desenvolvimento de estudos que utilizem plantas pilotos de processamento U.H.T., para uma maior certeza de resultados. Nesse caso, seria de fundamental importância uma maior participação do setor industrial como forma de auxiliar na execução do uso dos equipamentos;

- Caracterização gênica dos animais com maior ou menor predisposição ao aparecimento de leites com problemas de estabilidade;

- Estudos mais consistentes a respeito do efeito dos problemas de estabilidade do leite sobre o processamento, rendimento e qualidade de

derivados lácteos;

- Avaliar o efeito do estresse (fome, desequilíbrio nutricional, calor, sede, ação aversiva) sobre o mecanismo de desenvolvimento do leite instável não ácido;

Dificuldades para realização dos experimentos

Alguns pontos devem ser ressaltados a respeito da dificuldade da execução do experimento, entre essas dificuldades pode-se ressaltar:

- A distância até o local de realização dos levantamentos, considerando que algumas propriedades ficavam a mais de 80 km de distância da sede da indústria;

- Por questões financeiras, uma vez que o projeto recebeu apoio financeiro de órgão de fomento, somente no último ano de execução, o que impediu a compra de equipamentos, como é o caso do potenciômetro para cálcio iônico, o que inviabilizou essa análise nos dois experimentos;

- O teste de tempo de coagulação no tanque, só foi realizado no último ano de experimento, pelo mesmo fato anteriormente mencionado, diminuindo o “n” amostral;

Estudos previstos para realização imediata

- Estudo da incidência do leite instável não ácido na região do extremo oeste catarinense;

- Efeito do uso de diferentes tipos de volumosos sobre a estabilidade do

leite;

- Avaliação do efeito do leite instável sobre a produção de derivados (queijos, iogurtes e manteigas);

CAPÍTULO X

10. CONCLUSÃO GERAL

A região estudada se caracteriza principalmente por propriedades de pequeno porte, com baixa escolaridade dos proprietários e com pouco entendimento a respeito de estabilidade do leite;

A região nordeste apresentou alta incidência de leite instável no período do experimento;

Houve correlação moderada a fraca entre os resultados do teste do álcool e o teste de tempo de coagulação no tanque;

De acordo com o estudo, o pH foi o principal fator que influenciou na estabilidade do leite, sendo que, a estabilidade ao álcool foi influenciada principalmente pela concentração de álcool, proporção entre cátions divalentes e monovalentes e o teor de sódio. Já o tempo de coagulação foi influenciado pelo tempo de coagulação inicial;

A proporção de concentrado na dieta não apresentou interferência sobre a estabilidade do leite;

A adição de citrato de sódio aumentou a estabilidade ao álcool e o

tempo de coagulação do leite;

As dimensões dos capilares interferem no resultado final do teste de tempo de coagulação do leite;

A temperatura do leite no momento do teste do álcool não interfere no resultado final do mesmo;

Não se detecta diferença na concentração de lactose do leite, quando medida por duas técnicas diferentes.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A.S. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas jersey**. 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2008.

ALAIS C. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. **Reverté, Barcelona**, 873p, 1985.

ALVARADO, C. et al. Uso de la prueba del alcohol en la estimación de la estabilidad proteica en leche de un rebaño Holstein de la zona central de Venezuela. In: XIII Congresso Venezolano de Producción e Indústria Animal. **Anais...Venezuela**, 2008.

ANEMA, S.G. & LI, Y. Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effect on casein micelle size. **Journal of Dairy Research**. Cambridge. v. 70, n. 1, p. 73-83, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 17th ed. Washington: AOAC, 2005.

AULDIST, M. J. & HUBBLE I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Australian Journal of Dairy Technology**. v. 53, n. 1, p 28-36, 1998.

AUGUSTIN, M.A.; CLARKE, P.T. **Effects of added salts on the heat stability of recombined concentrated milk**. *Journal of Dairy Research* 57. 213–226, 1990.

BANSAL, B. & CHEN, X. D. Modelling of milk fouling during ohmic heating, CHEMECA Conference, Brisbane, Australia, September 25-28 (on CD-ROM), 2001.

BARBOSA, C. P. et al. Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “Califórnia Mastitis Test” (CMT), no diagnóstico de mastite bovina. **Bioscience journal**. v. 18, n. 1, p. 93-102, 2002.

BARBOSA, R.S; SILVEIRA, I.D.B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.; STUMPF,

W.J; MARQUES L.T. Efeitos dos horários de medida, do estágio de lactação e do Leite Instável Não Ácido (LINA) sobre alguns atributos físicos do leite bovino. In: 9º Congresso Panamericano de Leite, Anais... Porto Alegre – RS, 2006a.

BARBOSA R.S; SILVEIRA, I.D.B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.; STUMPF W.J; MARQUES L.T. Efeitos dos horários de medida, do estágio de lactação e do Leite Instável Não Ácido (LINA) sobre alguns atributos físicos do leite bovino- Parte: 2. In: 9º Congresso Panamericano de Leite, **Anais...** Porto Alegre – RS, 2006b.

BARBOSA, R. S. et al. Efeito do período de lactação e estabilidade do leite sobre as características físico-químicas. In: I Congresso Brasileiro de Nutrição Animal, 2008. **Anais de Congresso:** Fortaleza. 2008.

BARROS, L. et al. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, v.9, 315p. 1999.

BARROS, L. et al. Variaciones de la Leche e Prueba del Alcohol. Departamento Ruminantes, Facultad de Veterinaria. Uruguayan Buiatrics Journey – Abstracts, 28º, Punta del Este, Uruguay, 2000.

_____. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. IN: GONZÁLES, F.H.D., DÜRR, J.W., FONTANELLI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre, RS. p. 44-57, 2001.

_____. Problemas de calidad de leche asociados a la alimentación. Estabilidad de la leche. En: Jornadas de lechería, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Uruguay, p 58-68., 2002.

_____. Ionized calcium as responsible of stability of milk. In: Congresso Pan-americano de Leite. Porto Alegre. **Anais**. p.427, 2006

BASTOS, M. S. R. Leite longa vida UHT: Aspectos do processamento e identificação dos pontos críticos de controle. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 66/67, p32 – 36, 1999.

BITENCOURT, D., XAVIER, S., TERRA, V. S. S. et al. A organização da cadeia produtiva do leite e seu impacto sobre a formação de preços. In: PRATES, E.R. et al. Encontro Anual da UFRGS sobre Nutrição de Ruminantes, 2., **Novos desafios para a produção leiteira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. 178p. 2000.

BRASIL, **Portaria n° 379**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1997.

BRASIL, Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa no 51** de 18 de

setembro de 2002. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, Qualidade, Coleta e Transporte de Leite. Diários Oficiais da União, Brasília, 39p, 2002.

BORGES, K. A. et al. Avaliação da qualidade do leite de propriedades da região do vale do Taquari no estado do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 37, n. 1, p. 39-44, 2009.

BUENO, V. F. F. et al. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e o período do ano no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v. 15, n. 1, p. 40-44, 2008.

BUTLER, W. R., et al. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 74, p. 858-865, 1996.

CALDEIRA, R.M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas: artigo de revisão. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 100, p. 125-139, 2005.

CHAVES, M. et al. Factores que afectan el resultado de la prueba del alcohol en leches con bajos recuentos de bacterias viables. In: 24° Congreso Argentino de Producción Animal. **Anais...** Rafaela-AR. 2001.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. Proteínas alimentarias. Zaragoza, Espana:Acribia S.A., 1989.

COSTA, F.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.

COUSIN, M.A. & MARTH, E.H. Psychrotrophic Bacteria Cause Changes in Stability of Milk to Coagulation by Rennet or Heat. *Journal of Dairy Science* Vol. 60, n. 7, 1976.

CUNHA, R.P.L. et al. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.1, p. 19-24, 2008.

DAVIES, D.T. e WHITE, J.C.D. The stability of milk protein to heat. **Journal of Dairy Research** n. 33, p.67-71, 1966.

DONATELE, D.M.; VIEIRA,L.F.P.; FOLLY, M.M. Relação do teste de Alizarol a 72% (v/v) em leite "in natura" de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. **Rev. Higiene Alimentar**, v. 7, n.110, 2003.

DONATELE, D.M. et al. Estudo da relação da prova do álcool 72% (v/v) com pH, grau Dornic e contagem de células somáticas do leite de vacas do município de campos do Goytacazes, RJ In: **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária – CONBRAVET**, 28., Brasília, Anais... Brasília, 2001.

DONNELLY, W.J. & HORNE, D.S. Relationship between ethanol stability of bovine milk and natural variations in milk composition. **Journal of Dairy Research**, n. 53, p. 23-33, 1986.

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

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.

FARIÑA, L.O. de. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em estabelecimentos da agricultura familiar envolvidos na pecuária leiteira dos municípios de Cascavel e Guaraniaçu/PR. **Conexão UEPG**. 2009.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2 ed. São Paulo: Rocca, 735p., 2008.

FERRARI, C.G.B. et al. Inestabilidad de la leche asociada a componentes lácteos y estacionalidad en vacas a pastoreo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.42, n.12, p.1785-1791, 2007.

FERREIRA, M.G. et al. Uréia e qualidade do leite. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. n. 6, ano 3, 2006.

FISCHER, V. et al. Chemical composition of unstable non-acid milk. **Revista de Ciências Veterinárias**. v. 4, n.4, s.1, p.52, 2006.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FOX, P. F. **Food chemistry**. Part. III. Cork: Cork University College, 201p, 1991.

FOX, P. F. & BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. **International Dairy Journal** n.18, p. 677– 684, 2008.

FOX P. F. y MORRISSEY P. A. Review of the progress of Dairy Science: the heat stability of milk. **Journal of Dairy Research**. n. 44, p. 627-646, 1977.

FRUSCALSO, V. **Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência de leite instável ao ácido.** 2007. 147f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2007.

_____. Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos Meses do Ano. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v. 33, n. 6, p.1531-1543, 2004.

GAUCHERON, F. The minerals of milk. **Reproduction Nutrition Development.** Rennes, v. 45, p. 473 – 483, 2005.

GOFF, D. (2006). University of Guelph. Dairy Science and Technology. <http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/home.html>. 05/01/2010.

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.** Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. p.44-57.

GONZALES, F. H. D e SILVA, S.G. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária.** 2. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2006. 358 p.

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. **Eur. Biophys. J.**, 33:421-434, 2004.

HOLM, G.E. et al. The heat coagulation of milk: variations in the compositions, heat stability, and other tests of milks from four cows during the course of a lactation period. 1932.

HORNE, D.S.; PARKER T.G. The pH sensibility of the ethanol stability of individual cow milks. **Neth Milk Dairy Journal**, n. 34, p. 126-130, 1979.

_____. Factors affecting the ethanol stability of bovine milk. II. The origin of the pH transition. **Journal of Dairy Research**, n. 48, p.285-291, 1981.

_____. Factors affecting the ethanol stability of bovine milk. V Effects of chemical modification of milk protein. **Journal of Dairy Research.** v.49, n. 3, p.285-291, 1983.

HORNE, D.S. **Ethanol stability of casein micelles a hypothesis concerning the role of calcium phosphate.** *Journal of Dairy Research.* n. 54, p.389-395, 1987.

_____. Ethanol stability. En: **Advanced Dairy Chemistry. 1. Proteins.** Fox P.F.,ed. Elsevier Appl. Science, London, p. 657-689, 1992.

HORNE, D.S & MUIR, D.D. Alcohol and heat stability of Milk protein. **Journal of dairy research.** v. 46, n. 3, p.433-439, 1990.

KNEIFEL W., et al. Comparison of the An Bord Baine method, the Australian Standard method and an automatic procedure for determining the heat-coagulation time of 20 % reconstituted milk. **Journal of Society of Dairy Technology**. v. 40, p. 42-45. 1987.

KIVÁRIA, F. M.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; NIELEN, M. Interpretation of California mastitis test scores using Staphylococcus aureus culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzânia. **Preventive Veterinary Medicine**. V. 78, p. 274-285, 2007.

KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. Editora LAB, Ed. 1. 2008. 256p

LEHNINGER, A.L. **Bioquímica**. 2ª ed., Ediciones Omega, Barcelona, España. 1995.

LINN, M.J. et al. Effect of pH on the calcium movement in milk between colloidal and ionic phases. In: World Conference on Animal Production, 9., and Reunião da Associação Latino Americana de Produção Animal. 18., Porto Alegre, **Anais...** Porto Alegre: ALPA, 2003.

_____. Measurement of ionic calcium in Milk. **International Journal of Dairy Technology**. v. 59, n.3, 2006.

LIRA, A.V. **Contagem de células somáticas e composição do leite cru resfriado nos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte**. 2007, 56f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Universidade Federal Rural de Pernambuco – Recife-PE, 2007.

LINZELL, J.L. et al. The secretion of citrate into milk. *Journal of Physiology*, v. 260, p. 739-750, 1976.

LOPES, L.C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo**. 2008. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP – São Paulo-SP, 2008.

MACHADO, P.F. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agricola**, v.57, n.2, p.359-361, 2000.

MACHADO, S.C. et al. O EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE AS RESPOSTAS DA PROVA DE ESTABILIDADE AO ETANOL. In: 6 congresso Internacional do leite, 2007, Rezende. **Anais do 6º Congresso Internacional do leite**, 2007.

MARQUES, L.T. Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos. (2004). 68p. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2004.

MARQUES, L.T. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira Agrociência**. v. 13, n. 1, p.91-97, 2007.

MARTINS, P. R. G. et al. Produção e qualidade do leite em sistemas de produção da região leiteira de Pelotas, RS, Brasil. **Revista Ciência Rural**, v.37, n1, p. 212-217, 2007.

MARTINS, A. M. C. V. et al. Efeito do processamento térmico UAT (ultra alta temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. **Ciência e Tecnologia dos alimentos**, Campinas, v. 2 n. 28, p295 – 298, 2008.

MIKHEEVA, L.M. et al. Thermodynamics of micellization of bovine β -casein studied by high-sensitivity differential scanning calorimetry. **Langmuir**, v.19, 2913-2921. 2003.

MOLINA, L.H.; et al. Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. **Archivos de Medicina Veterinária**. nº 2, vol 33, Valdivia: Chile. 2001.

MONTEIRO, A.A. et al. Características da produção leiteira da região do agreste do estado de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**. v. 28, n. 4, p. 665-674, 2007

MEYER, P.M. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1114-1121, 2006.

MÜHLBACH, P.R.F. Nutrição da vaca em lactação e qualidade do leite. In: 1 Simpósio de Bovinocultura de Leite. **Anais...** Chapecó- SC, p. 25-43, 2003.

NEGRI, L. M. **Estúdio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre La estabilidad térmica**. 2002. 169f. Tesis (Magister em Ciência y Tecnologia de los Alimentos) Facultad de Ingeniería Química, Argentina, 2002.

NEGRI, L., et al. Determinación de las variables que afectan la estabilidad térmica de la leche utilizando un método capilar para evaluar el tiempo de coagulación por calor. **Revista Argentina de Lactología**. nº 22-33-44, 2003.

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.

OGOLA, H. et al. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal Veterinary Science**. v. 8, n. 3, p.237–242, 2007.

OLIVEIRA, D. dos S. et al. Ocorrência de leite com instabilidade da caseína em Santa Vitória do Palmar, RS. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v. 14, n. 2, p. 101-104, 2007.

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

ORTOLANI, E. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Gramado, Brasil. 2002.

PAEZ, R. et al. Estudio de la estabilidad térmica y al alcohol durante los días pos-parto en leche cruda de vaca. In: 9º Congresso Panamericano do Leite. **Anais...** Porto Alegre-RS. 2006.

PEAKER, M. & FAULKNER, A. Soluble milk constituents. **Proc. Nutr. Soc.** n. 42,419p. 1983.

PEREZ Jr., J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. p.44-57.

PHILIPPE, M. et al. Physicochemical characterization of calcium-supplemented skim Milk. **Lait**. Le Ulis, v. 83, p.45-59, 2003.

PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. Vencendo a luta contra a mastite. **Ed. Westfalia Landtechnik do Brasil**, 2002.

PRATA, L. F. Leite UHT: solução ou problema? Uma análise da situação. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 54, p. 10-15, 1998.

RAMIRES, C. H.; BERGER, E. L.; ALMEIDA, R. Influência da qualidade microbiológica da água sobre a qualidade do leite. **Archives of Veterinary Science**. v. 14, n. 1, p. 36-42, 2009.

ROMA JÚNIOR, L.C. et al. Efeito de diferentes tipos de fraudes sobre os componentes do leite e influência nos programas de pagamento de qualidade. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2007, Jaboticabal. 44ª Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Viçosa : SBZ, 2007.

ROSA, M.S. da et al. **Boas Práticas de Manejo – Ordenha**. Jaboticabal: Funep. 43p. 2009.

ROSE, D. Variation in the heat stability and composition of milk from individual cows during lactation. **Journal of Dairy Science**. n. 44, p. 430-441, 1961.

_____. Factors affecting the heat stability of milk. **Journal of Dairy Science**, n. 45, p.1305-1311, 1962.

_____. Heat stability of bovine milk: a review. **Dairy Science Abstracts**. n. 25, p. 45-52, 1963.

SANTOS, M.V. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite. In: O COMPROMISSO com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo: UPF, 331p, 2004.

SALAÜN, F. et al. Buffering capacity of dairy products. **International Dairy Journal**. v. 15, p.95–109, 2005.

SHILTON, N.; JOHNSON, A.; LEWIS, M.J. An investigation of a possible relationship between the ethanol stability of milk and the fouling of milk in an ultra high temperature process. **Journal of Society of Dairy Technology**, n.45, p.9-10, 1992.

SHITANDI, A. & KIHUMBU, G. Assessment of the California mastitis test usage in smallholder dairy herds and risk of violative antimicrobial residues. **Journal of Veterinary Science**. v. 5, n. 1, p.5-9, 2004.

SILVA, L.C. et al. Influência dos fenômenos *El niño* e *La niña* na precipitação e temperatura de Rio Grande-RS, 2001.

SILVA, N. Doença da Glândula Mamária: mamite/mastite. In: Marques, D. C. (Ed.) **Criação de Bovinos**. 7.ed. Belo Horizonte: Consultoria Veterinária e Publicações, 2003. p. 435-451. In: Congresso de Iniciação Científica. **Anais...**Rio Grande: Faculdade de Agronomia. 2003.

SILVA, P. H. F.; **Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos**. Juiz de Fora, 1997.

SILVA, P.H.F.; ALMEIDA, M.C.F. Estabilidade térmica do leite. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**. v. 296, n. 50, s. 5, p. 33-41, 1999.

_____. Leite UHT: **Fatores determinantes para a sedimentação e geleificação**. Juiz de Fora, MG, 128p, 2004.

SILVA, P. H. F. e ALMEIDA, M. C. F. Estabilidade térmica do leite. Artigo PH1-1. 8 p. Atrius. Disponível em: <<http://www.atruius.com.br/download.html>>. Acesso em: 20 dez 2009.

SILVEIRA, T.M.L. et al. **Comparação entre os métodos de referência e a análise eletrônica na determinação da composição do leite bovino**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.56, n.6, p.782-787, 2004.

SINGH, H. & FOX, P. Heat stability of milk: role of b-lactoglobulin in the pH-dependent dissociation of micellar k-casein. **Journal of Dairy Research**. n. 54, p. 509-521, 1987.

SINGH, H. Heat Stability of Milk. **International Journal of Dairy Technology**. v. 57, n 2/3, 111 – 119. 2004.

SINGH H. & CREAMER L.K. Heat stability of milk. In: **Advanced Dairy Chemistry. 1. Proteins**. Fox P.F., ed. Elsevier Appl. Science, London, p. 621-

656, 1992.

SOBHANI, S; VALIZADEH,R.; NASERIAN,A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.80, Suppl. 1/J. v.85, Suppl. 1, 1998.

SOMMER, H.H. & HART, E.B. The heat coagulation of milk. **Department of Agricultural Chemistry, University of Wisconsin**. P. 137 - 151, 1919.

SOMMER, H.H. & BINNEY, T.H. Study of the factors that influence the coagulation of milk in the alcohol test. **TESIS**. Master of Science in the graduate school of the University of Wisconsin, 1922.

SWEETSUR, A.W.M. & MUIR, D.D. Role of cyanate ions in the urea-induced stabilization of the caseinate complex in skim-milk. **Journal of Dairy Research**. v. 48, p. 163-166, 1981.

STELWAGEN, K. et al. **Short Communication: Effects of isolation stress on mammary tight junctions in lactating dairy cows**. J. Dairy Sci, n. 83, p.48-51, 2000.

TORTORA, G.J. et al., **Microbiologia**. Artmed: São Paulo/SP. 8 ed., 894p. 2005.

TOZZETTI, D.S. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 10, 2008.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção e qualidade do leite**. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 166p. 1997.

VALLIN, V.M. et al. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 181-188, 2009.

VAN BOEKEL, M.A.J.S, NIEUWENHUIJSE, J.A & WALSTRA, P. The heat coagulation of milk. 3. Comparasion of theory and experiment. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, n. 43: p.147-162, 1989.

VAN BOEKEL, M.A.J.S. Mechanisms of heat coagulation of milk products. v.3 n.2: 205-215p,1993.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Salem, OR: O & B Books, 485p, 1994.

VARNAM, A.H. & SUTHERLAND, J.P. **Leche y productos lácteos: tecnología, química y microbiología**. Editorial Acribia (Zaragoza), 474p. 1995.

VELOSO, C.R.V. Noções básicas da acidez. In: **A qualidade do leite**. BRITO,

J.R.F., DIAS, J.C. São Paulo: Tortuga, p.91-98, 1998.

VETHARANIAM, I. Modeling the Interaction of Milking Frequency and Nutrition on Mammary Gland Growth and Lactation. **Journal Dairy Science**. n. 86, p.1987-1996, 2003.

VIERO, V. **Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido**. 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) Faculdade de Agronomia – UFRGS – Porto Alegre-RS, 2008.

WALSTRA, P. & JENNESS, R. **Química y física lactológica**. Editorial Acribia (Zaragoza), 423p. 1984.

WALSTRA, P. et al. **Dairy Technology: principles of milk properties and processes**. Food Science and Technology. 727p, 1999.

WILDMAN, E. E. et al. A dairy condition scoring system and its relationship to production characteristics. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

WINK, C.A. e THALER NETO, A. Diagnóstico da adequação de propriedades leiteiras em Santa Catarina às normas brasileiras de qualidade do leite. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. v.8, n.2, p. 164-172, 2009.

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS J.; PATIÑO H.O.; RIBEIRO L.AL. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Ed. UFRGS, Porto Alegre, 2000.

ZAFALON, L. F. et al. Influência da mastite sub-clínica bovina sobre as frações protéicas do leite. **Arquivos do Instituto de Biologia**. v. 75, n. 2, p. 135-140, 2008.

ZANELA, M.B. Caracterização do leite produzido no Rio Grande do sul, ocorrência e indução experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA). Pelotas, 2004. 143f. Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção Animal). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel, 2004.

ZANELA, M. B. et al. Qualidade do leite em sistemas de produção na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n.1, p. 153-159, 2006a.

_____. et al. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n.5, p. 835-840, 2006b.

_____. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivos Brasileiros de Veterinária e Zootecnia**. v.61, n.4, p.1009-1013, 2009.

APÊNDICE

APÊNDICE I

QUESTIONÁRIO PROJETO DE PESQUISA “LIT”

ALUNO: Sandro Charopen Machado

N° :

1. DADOS DO PRODUTOR:

1.1) _____ Nome _____ do
produtor:_____

1.2) Matrícula:_____ 1.3) nº ou nome da
rota:_____

1.4) Localidade:_____ 1.5)
Município:_____

1.6) Escolaridade: () 1º grau () 2º grau () técnico () graduação () pós-
graduação.

1.7) fone para contato:_____

2. DADOS DA PROPRIEDADE:

2.1) Área da propriedade destinada: (T) total (A) agricultura (L) leite
() () () menos de 5 ha () () () 05 a 15 ha () () () 16 a 30 ha
() () () 31 a 60 ha () () () 61 a 100 ha () () () 101 a 200
ha () () () + de 200 ha

2.2) Infraestrutura da propriedade:

() energia elétrica (M) mono (B) Bi e (T) trifásico

() fonte de água (V) vertente (A) poço artesiano (C) poço comum (T) água
tratada

() outros:_____

2.3) Modelo de produção:

() familiar;

quem?_____

() patronal; quantos?_____

() contratação temporária;

quando?_____

3. DADOS DOS ANIMAIS:

3.1) Nº total de animais leiteiros: _____

() lactação () secas () novilhas () terneiras () machos

3.3) Raças: () holandês _____ () Jersey _____ () cruza _____

3.4) Média de produção (litros): _____ 3.5) última produção mensal: _____

3.6) Tempo de lactação:

() 1 a 3 meses _____ () 4 a 10 meses _____ () mais de 10

meses _____ () não sei _____

3.7) Idade dos animais em lactação:

() até 4 anos _____ () de 4 a 8 anos _____ () mais de 8 anos _____ () não

sei _____

4. DADOS DO PROCESSO:

4.1) Tipo de ordenha: () M. balde ao pé () M. circuito fechado () manual

4.2) Que etapas são usadas na ordenha: () lava com água () seca () desinfeta os tetos pré ordenha () desinfeta os tetos pós ordenha () teste do CMT; freq. _____ () teste da caneca de fundo preto; freq. _____ () nenhuma

4.3) Sistema de resfriamento: () tanque de imersão () à granel

4.4) A coleta do leite em sua propriedade acontece:

() todos os dias () de 2 em 2 dias () de 3 em 3 dias () mais de 3 dias

5. DADOS DE NUTRIÇÃO:

5.1) tipo de alimentação: (M) milho (S) sorgo (A) alfafa

() pastagem de inverno () silagem () ração () feno () pastagem de verão

() outros _____

6. DADOS DE QUALIDADE DO LEITE:

6.1) No último mês o leite da propriedade foi descartado pelo transportador?

() não () sim; quantas vezes: _____

6.2) Qual o motivo dado pelo transportador para o descarte?

() acidez () água () cortava no álcool () nenhum ()

outro _____

APÊNDICE II
DADOS ORIGINAIS DE PESQUISA
PROTOCOLO LIT MENSAL ATUAL – EXCEL

AMOSTRA	DATA	PH	DORNIC	ÁLCOOL	TCT	FERV	CBT
25	NOV	6,8	17	78	9,33	n	443
93	NOV	6,7	18	68	4,20	n	2154
176	NOV	6,7	16	76	2,30	n	270
286	NOV	6,8	17	76	10,25	n	1095
297	NOV	6,6	18	78	4,57	n	76
317	NOV	6,9	17	74	3,16	n	556
346	NOV	6,8	15	76	2,43	n	1291
411	NOV	6,5	18	68	0,22	n	101
439	NOV	6,8	17	70	6,25	n	1106
748	NOV	6,9	15	72	5,45	n	667
811	NOV	6,9	15	80	4,56	n	463
880	NOV	6,8	18	68	10,53	n	1590
899	NOV	6,7	18	72	4,29	n	51
997	NOV	6,7	18	68	10,09	n	237
1182	NOV	6,7	17	70	2,34	n	3309
1408	NOV	6,7	18	68	11,03	n	1452
1608	NOV	6,8	18	76	3,20	n	2349
1719	NOV	6,7	17	74	4,19	n	5213
1873	NOV	6,6	18	68	3,08	n	1202
2051	NOV	6,8	16	78	4,31	n	441
2161	NOV	6,8	18	68	0,20	n	568
2218	NOV	6,7	18	78	12,45	n	768
2284	NOV	6,8	17	74	15,40	n	8303
3071	NOV	6,6	16	81	5,30	n	315
3147	NOV	6,7	15	78	6,25	n	3285
3185	NOV	6,8	16	72	4,45	n	395
3211	NOV	6,7	16	74	12,45	n	630
3919	NOV	6,9	17	70	30,00	n	5299
4056	NOV	6,8	15	76	3,59	n	189
4083	NOV	6,8	16	78	9,40	n	518
4201	NOV	6,7	18	68	4,13	n	12083
4274	NOV	6,8	16	76	6,20	n	386
4342	NOV	6,7	15	72	3,08	n	604
4457	NOV	6,7	17	70	3,00	n	1483
4461	NOV	6,7	14	72	2,58	n	2670
4515	NOV	6,8	15	76	2,09	n	2012
4799	NOV	6,7	18	68	4,02	n	2266
4853	NOV	6,9	15	78	7,58	n	4984
4984	NOV	6,8	16	70	5,43	n	855

5167	NOV	6,7	18	74	5,40	n	125
5475	NOV	6,7	17	68	6,05	n	1113
5561	NOV	6,7	15	68	11,03	n	897
5612	NOV	6,6	17	74	11,14	n	43
5626	NOV	6,8	16	72	9,24	n	101
5775	NOV	6,8	17	68	6,09	n	1327
6035	NOV	6,7	16	70	1,45	n	4741
6158	NOV	6,7	14	78	11,15	n	3269
6225	NOV	6,8	17	81	2,15	n	376
6271	NOV	6,7	18	68	1,56	n	1464
6412	NOV	6,6	18	72	4,56	n	2010
25	DEZ	6,8	16	72	3,03	n	597
93	DEZ	6,7	16	81	3,47	n	3052
176	DEZ	6,7	17	76	3,11	n	173
286	DEZ	6,9	15	78	2,47	n	556
297	DEZ	6,7	17	76	5,47	n	46
317	DEZ	6,8	15	81	3,20	n	608
346	DEZ	6,8	16	76	2,22	n	1212
411	DEZ	6,7	14	76	1,52	n	54
439	DEZ	6,8	14	80	2,45	n	647
748	DEZ	6,7	16	74	4,28	n	273
811	DEZ	6,7	16	81	7,42	n	301
880	DEZ	6,6	19	68	2,80	n	2014
899	DEZ	6,6	15	76	4,40	n	48
997	DEZ	6,9	15	76	5,32	n	1111
1182	DEZ	6,8	15	68	3,28	n	1023
1408	DEZ	6,7	16	72	13,38	n	1309
1608	DEZ	6,8	16	81	7,38	n	84
1719	DEZ	6,8	15	68	2,21	n	1914
1873	DEZ	6,7	15	76	5,24	n	110
2051	DEZ	6,7	14	68	3,45	n	568
2161	DEZ	6,7	18	72	4,23	n	6806
2218	DEZ	6,6	18	78	9,25	n	60
2284	DEZ	6,7	16	76	4,42	n	1629
3071	DEZ	6,6	14	68	5,45	n	958
3147	DEZ	6,8	14	76	6,43	n	2645
3185	DEZ	6,6	17	72	2,50	n	906
3211	DEZ	6,6	17	74	4,44	n	456
3919	DEZ	6,6	18	81	5,05	n	398
4056	DEZ	6,7	17	76	2,06	n	161
4083	DEZ	6,7	14	72	5,56	n	345
4201	DEZ	6,8	14	76	3,45	n	2739
4274	DEZ	6,8	15	81	7,04	n	213
4342	DEZ	6,7	15	76	2,20	n	328

4457	DEZ	6,7	16	74	4,45	n	489
4461	DEZ	6,6	14	68	3,45	n	2013
4515	DEZ	6,8	14	74	4,54	n	332
4799	DEZ	6,7	16	81	5,02	n	1240
4853	DEZ	6,5	18	68	2,33	n	567
4984	DEZ	6,6	17	80	2,32	n	3135
5167	DEZ	6,6	15	80	2,45	n	93
5475	DEZ	6,7	17	78	5,36	n	385
5561	DEZ	6,6	18	68	3,12	n	234
5612	DEZ	6,8	14	78	3,45	n	129
5626	DEZ	6,8	16	81	4,48	n	1231
5775	DEZ	6,7	18	68	3,47	n	440
6035	DEZ	6,8	17	81	7,43	n	.
6158	DEZ	6,7	15	74	4,12	n	14766
6225	DEZ	6,6	17	81	5,27	n	2682
6271	DEZ	6,7	16	81	3,53	n	768
6412	DEZ	6,6	18	68	2,23	n	8638
25	JAN	6,8	18	78	4,55	n	478
93	JAN	6,7	18	70	4,35	n	2020
176	JAN	6,8	16	76	3,21	n	290
286	JAN	6,9	16	78	7,58	n	1001
297	JAN	6,7	17	78	3,56	n	82
317	JAN	6,9	15	72	3,20	n	501
346	JAN	6,7	17	74	1,50	n	1221
411	JAN	6,6	18	68	1,03	n	130
439	JAN	6,9	16	74	6,57	n	1037
748	JAN	6,8	16	72	4,54	n	789
811	JAN	6,8	15	81	3,52	n	498
880	JAN	6,8	18	68	8,54	n	1438
899	JAN	6,6	18	72	3,56	n	80
997	JAN	6,8	17	68	8,56	n	345
1182	JAN	6,7	18	70	2,03	n	4102
1408	JAN	6,6	18	68	9,07	n	1587
1608	JAN	6,8	17	76	3,56	n	2298
1719	JAN	6,8	16	74	5,24	n	4321
1873	JAN	6,7	17	68	2,49	n	1345
2051	JAN	6,8	15	78	5,12	n	456
2161	JAN	6,7	18	68	1,38	n	6006
2218	JAN	6,7	17	78	9,46	n	102
2284	JAN	6,8	18	76	12,45	n	7563
3071	JAN	6,7	16	81	5,45	n	310
3147	JAN	6,8	16	78	7,02	n	3105
3185	JAN	6,8	17	74	4,12	n	390
3211	JAN	6,8	16	76	10,23	n	640

3919	JAN	6,9	16	72	25,22	n	5178
4056	JAN	6,8	14	76	4,25	n	180
4083	JAN	6,8	15	78	8,56	n	489
4201	JAN	6,7	18	68	4,01	n	1142
4274	JAN	6,7	17	76	5,54	n	312
4342	JAN	6,8	16	72	4,12	n	789
4457	JAN	6,7	17	70	3,00	n	1483
4461	JAN	6,7	14	72	2,58	n	1230
4515	JAN	6,8	16	76	3,45	n	1756
4799	JAN	6,7	18	68	4,02	n	2266
4853	JAN	6,8	16	76	6,32	n	2456
4984	JAN	6,8	15	72	6,23	n	732
5167	JAN	6,7	17	74	6,05	n	267
5475	JAN	6,6	18	68	5,45	n	987
5561	JAN	6,7	15	68	11,03	n	1230
5612	JAN	6,8	16	76	12,45	n	59
5626	JAN	6,8	15	74	8,37	n	298
5775	JAN	6,7	18	68	5,34	n	1123
6035	JAN	6,7	16	70	1,45	n	4741
6158	JAN	6,9	15	78	12,45	n	2456
6225	JAN	6,8	16	81	4,56	n	399
6271	JAN	6,7	17	68	2,24	n	1021
6412	JAN	6,6	18	72	4,56	n	2010
25	FEV	6,8	17	78	9,33	n	443
93	FEV	6,7	18	80	6,56	n	1045
176	FEV	6,7	16	76	2,30	n	270
286	FEV	6,8	15	81	8,46	n	1324
297	FEV	6,7	15	72	5,40	n	150
317	FEV	6,8	14	81	5,45	n	765
346	FEV	6,8	15	76	2,43	n	1291
411	FEV	6,8	14	70	2,54	n	180
439	FEV	6,7	16	76	6,08	n	1324
748	FEV	6,9	14	81	4,25	n	1023
811	FEV	6,9	15	80	4,56	n	463
880	FEV	6,8	16	81	6,58	n	1028
899	FEV	6,7	18	72	9,52	n	102
997	FEV	6,7	18	68	10,09	n	237
1182	FEV	6,7	18	70	3,56	n	2352
1408	FEV	6,7	15	74	4,12	n	1698
1608	FEV	6,8	18	76	3,20	n	2349
1719	FEV	6,7	17	74	4,19	n	5213
1873	FEV	6,6	18	68	3,08	n	1202
2051	FEV	6,6	17	74	4,25	n	678
2161	FEV	6,7	18	68	2,10	n	2456

2218	FEV	6,7	15	68	9,44	n	125
2284	FEV	6,6	18	72	7,45	n	5211
3071	FEV	6,7	17	68	7,18	n	468
3147	FEV	6,7	17	78	5,32	n	1368
3185	FEV	6,7	17	68	3,45	n	487
3211	FEV	6,7	16	74	12,45	n	630
3919	FEV	6,8	15	68	2,23	n	.
4056	FEV	6,8	15	76	3,59	n	189
4083	FEV	6,7	16	68	2,37	n	.
4201	FEV	6,7	18	68	4,13	n	12083
4274	FEV	6,8	16	76	6,20	n	386
4342	FEV	6,9	14	72	2,45	n	845
4457	FEV	6,6	18	70	1,25	n	1234
4461	FEV	6,7	14	72	2,58	n	2670
4515	FEV	6,8	15	76	2,09	n	2012
4799	FEV	6,8	15	72	5,40	n	1765
4853	FEV	6,8	15	78	6,34	n	2887
4984	FEV	6,7	17	70	3,25	n	967
5167	FEV	6,7	18	74	5,40	n	125
5475	FEV	6,7	17	68	6,05	n	1113
5561	FEV	6,6	17	68	10,01	n	1145
5612	FEV	6,6	17	74	11,14	n	43
5626	FEV	6,8	16	72	9,24	n	101
5775	FEV	6,8	17	68	6,09	n	1327
6035	FEV	6,7	16	70	1,45	n	4741
6158	FEV	6,6	16	68	3,26	n	1423
6225	FEV	6,8	17	81	2,15	n	376
6271	FEV	6,7	18	81	4,26	n	1245
6412	FEV	6,6	18	70	15,00	n	1987
25	MAR	6,7	16	68	2,30	n	5467
93	MAR	6,8	18	78	5,45	n	2742
176	MAR	6,8	15	80	2,40	n	3567
286	MAR	6,7	18	80	2,56	n	2457
297	MAR	6,8	16	72	4,35	n	1456
317	MAR	6,8	15	81	6,31	n	3456
346	MAR	6,8	16	78	2,54	n	4432
411	MAR	6,9	14	76	2,00	n	807
439	MAR	6,7	16	68	3,19	n	1365
748	MAR	6,6	18	70	2,45	n	1234
811	MAR	6,8	16	81	2,25	n	11437
880	MAR	6,9	16	81	5,49	n	1234
899	MAR	6,8	18	78	8,15	n	657
997	MAR	6,6	17	70	10,09	n	993
1182	MAR	6,8	17	72	3,45	n	3456

1408	MAR	6,9	15	74	5,23	n	1123
1608	MAR	6,7	17	81	5,01	n	5678
1719	MAR	6,8	16	76	3,56	n	4581
1873	MAR	6,6	17	74	3,34	n	1234
2051	MAR	6,8	14	76	5,38	n	3456
2161	MAR	6,7	17	68	3,14	n	342
2218	MAR	6,7	17	81	3,25	n	789
2284	MAR	6,7	16	70	3,48	n	4532
3071	MAR	6,7	18	72	6,34	n	1456
3147	MAR	6,6	17	68	5,50	n	3456
3185	MAR	6,8	16	68	4,32	n	1234
3211	MAR	6,7	18	80	4,28	n	1463
3919	MAR	6,8	14	72	3,56	n	1879
4056	MAR	6,7	15	78	2,19	n	345
4083	MAR	6,8	16	72	5,43	n	2345
4201	MAR	6,7	17	68	4,34	n	1798
4274	MAR	6,8	15	81	3,20	n	567
4342	MAR	6,8	14	68	3,21	n	4567
4457	MAR	6,6	18	72	2,32	n	8765
4461	MAR	6,8	15	74	2,32	n	1234
4515	MAR	6,9	14	76	2,46	n	312
4799	MAR	6,7	18	72	5,17	n	2268
4853	MAR	6,6	18	70	3,25	n	3445
4984	MAR	6,7	18	81	3,00	n	4356
5167	MAR	6,7	16	80	6,30	n	213
5475	MAR	6,7	18	74	2,54	n	1234
5561	MAR	6,8	17	74	8,32	n	1134
5612	MAR	6,7	17	76	9,56	n	154
5626	MAR	6,8	16	74	6,43	n	121
5775	MAR	6,6	17	68	2,00	n	3306
6035	MAR	6,8	15	78	3,43	n	4456
6158	MAR	6,7	17	72	9,08	n	4257
6225	MAR	6,8	18	81	4,32	n	374
6271	MAR	6,7	17	81	2,15	n	1259
6412	MAR	6,7	18	72	5,15	n	1667
25	ABR	6,7	17	70	4,56	n	1477
93	ABR	6,9	16	78	6,29	n	4012
176	ABR	6,8	16	80	4,32	n	362
286	ABR	6,6	16	78	5,05	n	1070
297	ABR	6,7	15	81	8,10	n	414
317	ABR	6,7	15	76	12,35	n	1963
346	ABR	6,8	16	76	4,19	n	803
411	ABR	6,7	15	76	5,30	n	269
439	ABR	6,6	18	68	3,45	n	373

748	ABR	6,6	18	68	5,20	n	429
811	ABR	6,7	15	76	3,40	n	1273
880	ABR	6,6	16	76	2,25	n	522
899	ABR	6,6	16	72	2,59	n	806
997	ABR	6,7	15	76	7,46	n	1024
1182	ABR	6,7	16	76	4,45	n	1298
1408	ABR	6,8	15	78	5,28	n	1170
1608	ABR	6,5	17	81	5,00	n	2022
1719	ABR	6,7	17	76	4,32	n	3161
1873	ABR	6,6	18	74	3,56	n	160
2051	ABR	6,7	17	76	4,45	n	58
2161	ABR	6,6	17	70	4,21	n	6290
2218	ABR	6,8	15	78	5,02	n	70
2284	ABR	6,7	16	68	3,25	n	1404
3071	ABR	6,6	17	76	5,29	n	854
3147	ABR	6,6	18	70	3,56	n	1112
3185	ABR	6,7	17	74	3,57	n	671
3211	ABR	6,6	17	78	5,45	n	1135
3919	ABR	6,7	18	68	2,56	n	324
4056	ABR	6,6	17	68	4,34	n	426
4083	ABR	6,8	16	72	6,34	n	602
4201	ABR	6,7	15	80	5,32	n	3630
4274	ABR	6,6	17	78	5,30	n	579
4342	ABR	6,7	17	72	3,10	n	190
4457	ABR	6,7	18	68	2,16	n	800
4461	ABR	6,7	17	72	4,29	n	.
4515	ABR	6,6	17	78	4,21	n	215
4799	ABR	6,8	15	78	5,40	n	2692
4853	ABR	6,7	16	76	4,19	n	5395
4984	ABR	6,8	15	81	5,32	n	901
5167	ABR	6,6	17	74	4,32	n	119
5475	ABR	6,7	17	68	1,34	n	2254
5561	ABR	6,6	18	70	3,25	n	.
5612	ABR	6,7	17	78	5,12	n	55
5626	ABR	6,8	16	78	3,51	n	42
5775	ABR	6,7	18	68	2,14	n	1318
6035	ABR	6,6	17	76	5,20	n	404
6158	ABR	6,8	18	68	3,45	n	3316
6225	ABR	6,8	17	81	6,32	n	173
6271	ABR	6,6	17	81	2,15	n	9077
6412	ABR	6,6	18	72	3,21	n	4452
25	MAI	6,7	16	74	1,20	n	980
93	MAI	6,6	18	72	4,00	n	2420
176	MAI	6,7	16	78	4,25	n	1236

286	MAI	6,7	16	78	6,15	n	634
297	MAI	6,7	17	78	3,25	n	345
317	MAI	6,8	17	72	2,21	n	1789
346	MAI	6,8	16	80	3,55	n	2345
411	MAI	6,8	15	74	3,03	n	342
439	MAI	6,7	17	70	3,21	n	467
748	MAI	6,7	17	74	3,15	n	786
811	MAI	6,7	17	74	4,00	n	980
880	MAI	6,6	18	74	15,00	n	435
899	MAI	6,8	17	80	6,10	n	628
997	MAI	6,8	14	80	5,10	n	1910
1182	MAI	6,6	17	68	3,24	n	1546
1408	MAI	6,7	15	68	3,55	n	450
1608	MAI	6,8	14	80	5,56	n	500
1719	MAI	6,8	16	80	4,35	n	1948
1873	MAI	6,9	18	80	3,10	n	4567
2051	MAI	6,7	16	72	4,38	n	123
2161	MAI	6,6	18	68	2,22	n	5850
2218	MAI	6,7	17	81	12,13	n	568
2284	MAI	6,7	16	72	3,06	n	5288
3071	MAI	6,7	15	76	5,00	n	98
3147	MAI	6,6	18	68	2,43	n	1345
3185	MAI	6,7	17	76	4,38	n	123
3211	MAI	6,7	16	80	6,10	n	456
3919	MAI	6,8	14	68	2,56	n	397
4056	MAI	6,7	17	76	2,40	n	678
4083	MAI	6,8	15	72	7,40	n	245
4201	MAI	6,8	16	80	4,35	n	1283
4274	MAI	6,6	17	74	3,42	n	1970
4342	MAI	6,8	14	76	4,50	n	1028
4457	MAI	6,6	17	68	4,32	n	3245
4461	MAI	6,7	16	70	4,12	n	987
4515	MAI	6,7	17	78	3,55	n	1789
4799	MAI	6,8	15	78	5,56	n	1234
4853	MAI	6,7	16	74	3,45	n	2347
4984	MAI	6,8	14	80	5,01	n	7705
5167	MAI	6,7	18	76	2,10	n	345
5475	MAI	6,6	18	68	2,53	n	1704
5561	MAI	6,7	18	70	3,21	n	1376
5612	MAI	6,8	15	78	6,23	n	145
5626	MAI	6,7	16	76	3,40	n	267
5775	MAI	6,8	16	78	2,13	n	453
6035	MAI	6,7	18	74	7,00	n	1678
6158	MAI	6,7	17	70	4,32	n	2179

6225	MAI	6,9	14	81	9,27	n	567
6271	MAI	6,6	18	68	4,44	n	1760
6412	MAI	6,7	17	70	5,12	n	6985
25	JUN	6,6	18	68	2,25	n	833
93	JUN	6,7	17	78	8,25	n	1887
176	JUN	6,6	18	76	2,15	n	621
286	JUN	6,8	15	78	5,19	n	332
297	JUN	6,7	17	78	3,58	n	95
317	JUN	6,8	17	74	3,33	n	1414
346	JUN	6,6	18	74	3,26	n	1981
411	JUN	6,7	16	76	7,09	n	57
439	JUN	6,6	18	72	2,49	n	567
748	JUN	6,7	16	76	4,23	n	31
811	JUN	6,8	14	76	2,22	n	1081
880	JUN	6,6	17	76	12,38	n	570
899	JUN	6,7	17	78	4,18	n	124
997	JUN	6,8	15	78	4,45	n	975
1182	JUN	6,6	17	68	3,03	n	1421
1408	JUN	6,8	15	74	5,15	n	154
1608	JUN	6,7	16	78	4,51	n	1822
1719	JUN	6,8	16	78	4,32	n	3459
1873	JUN	6,7	17	76	2,30	n	169
2051	JUN	6,7	15	74	5,41	n	143
2161	JUN	6,8	16	70	2,59	n	12597
2218	JUN	6,7	16	80	10,45	n	1062
2284	JUN	6,6	17	68	1,30	n	6290
3071	JUN	6,7	17	74	4,58	n	244
3147	JUN	6,6	18	68	1,00	n	6363
3185	JUN	6,8	16	76	5,42	n	485
3211	JUN	6,7	17	78	7,21	n	833
3919	JUN	6,6	17	74	1,15	n	183
4056	JUN	6,7	16	76	3,05	n	107
4083	JUN	6,7	15	76	4,07	n	399
4201	JUN	6,8	14	81	6,28	n	9200
4274	JUN	6,8	16	80	7,02	n	917
4342	JUN	6,6	15	72	2,33	n	4817
4457	JUN	6,7	16	81	4,40	n	1003
4461	JUN	6,9	14	72	5,51	n	1245
4515	JUN	6,6	18	74	5,30	n	568
4799	JUN	6,8	16	78	5,57	n	2425
4853	JUN	6,6	18	68	2,47	n	1846
4984	JUN	6,7	18	80	2,32	n	4900
5167	JUN	6,8	15	76	3,30	n	208
5475	JUN	6,7	17	76	3,47	n	963

5561	JUN	6,6	18	74	4,20	n	989
5612	JUN	6,7	16	78	6,56	n	69
5626	JUN	6,7	15	78	4,44	n	37
5775	JUN	6,8	17	76	3,45	n	811
6035	JUN	6,6	16	74	7,24	n	3209
6158	JUN	6,8	16	76	3,01	n	3099
6225	JUN	6,7	16	81	3,40	n	38
6271	JUN	6,7	18	80	2,57	n	10425
6412	JUN	6,6	18	70	4,53	n	1253
25	JUL	6,7	17	70	3,45	n	825
93	JUL	6,7	16	78	7,31	n	4133
176	JUL	6,8	15	78	4,29	n	166
286	JUL	6,8	14	80	6,38	n	555
297	JUL	6,7	16	78	4,40	n	33
317	JUL	6,8	15	72	3,56	n	538
346	JUL	6,7	17	74	4,19	n	1072
411	JUL	6,8	15	78	7,18	n	395
439	JUL	6,6	17	74	3,10	n	345
748	JUL	6,8	15	78	7,54	n	190
811	JUL	6,8	14	78	2,45	n	507
880	JUL	6,7	17	78	14,23	n	293
899	JUL	6,8	16	78	5,23	n	116
997	JUL	6,7	16	80	4,21	n	807
1182	JUL	6,8	15	70	2,45	n	1071
1408	JUL	6,8	16	76	5,55	n	90
1608	JUL	6,8	18	78	3,23	n	275
1719	JUL	6,9	14	81	5,12	n	7229
1873	JUL	6,8	16	76	1,45	n	502
2051	JUL	6,8	15	72	6,24	n	426
2161	JUL	6,6	18	68	1,29	n	10601
2218	JUL	6,7	17	80	9,32	n	1693
2284	JUL	6,6	17	70	2,45	n	1912
3071	JUL	6,7	18	72	4,11	n	286
3147	JUL	6,8	17	70	3,21	n	14134
3185	JUL	6,7	17	74	6,21	n	368
3211	JUL	6,6	18	78	6,41	n	1489
3919	JUL	6,7	17	72	3,29	n	1286
4056	JUL	6,9	14	78	4,56	n	197
4083	JUL	6,8	15	78	3,56	n	885
4201	JUL	6,7	15	80	8,21	n	1827
4274	JUL	6,8	18	80	9,41	n	145
4342	JUL	6,6	17	70	1,52	n	2314
4457	JUL	6,8	14	81	8,21	n	1571
4461	JUL	6,8	15	74	5,44	n	678

4515	JUL	6,8	17	74	5,11	n	127
4799	JUL	6,6	18	72	4,55	n	1072
4853	JUL	6,7	18	68	1,45	n	2279
4984	JUL	6,6	17	80	4,11	n	10879
5167	JUL	6,9	14	81	4,19	n	92
5475	JUL	6,6	18	74	5,37	n	413
5561	JUL	6,7	17	76	3,56	n	7312
5612	JUL	6,8	14	81	9,12	n	123
5626	JUL	6,7	17	78	6,20	n	683
5775	JUL	6,8	15	78	4,21	n	1195
6035	JUL	6,7	17	74	5,56	n	7380
6158	JUL	6,9	14	78	3,49	n	1788
6225	JUL	6,7	17	80	4,10	n	72
6271	JUL	6,6	18	80	2,12	n	3442
6412	JUL	6,7	18	72	5,11	n	11930
25	AGO	6,7	18	68	3,21	n	856
93	AGO	6,6	18	78	6,21	n	2539
176	AGO	6,8	14	80	5,55	n	206
286	AGO	6,8	15	80	5,43	n	215
297	AGO	6,8	16	80	5,21	n	45
317	AGO	6,7	17	70	3,28	n	1047
346	AGO	6,6	18	72	4,38	n	373
411	AGO	6,8	14	81	8,21	n	102
439	AGO	6,7	18	76	3,42	n	267
748	AGO	6,9	14	81	8,52	n	531
811	AGO	6,8	15	78	4,21	n	215
880	AGO	6,6	18	78	11,12	n	318
899	AGO	6,8	14	80	4,58	n	43
997	AGO	6,8	15	80	4,32	n	417
1182	AGO	6,8	14	72	4,21	n	1262
1408	AGO	6,7	17	74	5,21	n	302
1608	AGO	6,8	15	78	2,45	n	2908
1719	AGO	6,9	14	81	6,33	n	164
1873	AGO	6,7	17	76	2,29	n	61
2051	AGO	6,8	14	70	5,28	n	260
2161	AGO	6,6	18	68	3,24	n	9683
2218	AGO	6,7	17	78	7,21	n	122
2284	AGO	6,7	18	70	3,56	n	1876
3071	AGO	6,7	18	72	4,08	n	.
3147	AGO	6,8	15	70	4,48	n	15829
3185	AGO	6,7	18	72	5,54	n	622
3211	AGO	6,8	15	80	7,34	n	1747
3919	AGO	6,6	18	70	2,38	n	.
4056	AGO	6,8	14	78	5,21	n	222

4083	AGO	6,8	14	80	4,31	n	931
4201	AGO	6,6	18	78	7,34	n	944
4274	AGO	6,8	16	80	10,11	n	460
4342	AGO	6,7	16	74	3,45	n	2107
4457	AGO	6,9	14	81	9,12	n	1010
4461	AGO	6,7	16	76	4,29	n	555
4515	AGO	6,8	15	74	6,32	n	123
4799	AGO	6,7	18	70	3,12	n	1105
4853	AGO	6,8	15	70	2,54	n	5818
4984	AGO	6,8	15	80	5,55	n	4681
5167	AGO	6,8	14	81	7,21	n	237
5475	AGO	6,7	17	72	5,20	n	407
5561	AGO	6,8	15	74	4,28	n	494
5612	AGO	6,8	14	81	7,32	n	81
5626	AGO	6,7	18	78	5,42	n	80
5775	AGO	6,9	14	81	8,21	n	14990
6035	AGO	6,6	18	70	6,12	n	345
6158	AGO	6,9	15	76	4,45	n	1390
6225	AGO	6,8	16	80	5,23	n	108
6271	AGO	6,7	18	78	3,19	n	1103
6412	AGO	6,8	15	72	6,11	n	842
25	SET	6,7	18	68	2,34	n	419
93	SET	6,6	17	76	5,43	n	2778
176	SET	6,7	16	80	6,32	n	472
286	SET	6,8	14	81	7,11	n	12158
297	SET	6,7	17	80	4,32	n	111
317	SET	6,8	17	72	4,41	n	339
346	SET	6,7	18	74	4,32	n	1970
411	SET	6,7	16	81	7,56	n	148
439	SET	6,8	14	78	4,44	n	789
748	SET	6,8	15	80	6,78	n	495
811	SET	6,7	14	78	5,45	n	74
880	SET	6,8	15	81	15,00	n	400
899	SET	6,9	14	80	4,32	n	426
997	SET	6,8	14	80	5,32	n	203
1182	SET	6,7	16	70	3,54	n	2656
1408	SET	6,8	15	78	5,45	n	283
1608	SET	6,6	18	80	3,56	n	1623
1719	SET	6,8	15	81	8,42	n	4848
1873	SET	6,6	18	70	3,00	n	159
2051	SET	6,8	17	68	6,12	n	355
2161	SET	6,7	16	70	4,54	n	6619
2218	SET	6,8	18	78	8,23	n	3839
2284	SET	6,9	15	70	4,45	n	12922

3071	SET	6,7	18	72	1,23	n	.
3147	SET	6,9	14	72	6,18	n	10487
3185	SET	6,8	17	76	4,21	n	6033
3211	SET	6,8	15	81	8,12	n	796
3919	SET	6,7	17	72	1,23	n	573
4056	SET	6,8	14	80	6,59	n	501
4083	SET	6,7	17	78	3,26	n	1886
4201	SET	6,8	15	80	5,49	n	3985
4274	SET	6,7	18	81	11,12	n	13156
4342	SET	6,6	18	70	2,34	n	1428
4457	SET	6,8	15	81	8,23	n	1751
4461	SET	6,6	18	72	3,54	n	558
4515	SET	6,8	14	76	5,45	n	8066
4799	SET	6,6	18	68	2,34	n	13999
4853	SET	6,9	14	72	5,32	n	7073
4984	SET	6,8	15	81	6,29	n	7206
5167	SET	6,7	16	81	7,32	n	441
5475	SET	6,8	15	72	3,43	n	311
5561	SET	6,8	14	76	5,59	n	1227
5612	SET	6,8	16	80	8,41	n	2618
5626	SET	6,6	17	76	5,54	n	49
5775	SET	6,8	15	80	7,39	n	499
6035	SET	6,7	17	68	4,56	n	238
6158	SET	6,8	14	80	3,49	n	2572
6225	SET	6,8	15	81	7,28	n	55
6271	SET	6,9	15	76	4,32	n	4406
6412	SET	6,8	14	70	5,37	n	1846
25	OUT	6,7	16	72	3,45	n	427
93	OUT	6,8	15	76	4,58	n	4840
176	OUT	6,7	16	78	5,32	n	262
286	OUT	6,8	15	74	6,24	n	650
297	OUT	6,7	16	70	5,37	n	106
317	OUT	6,9	14	78	4,21	n	2517
346	OUT	6,7	16	74	4,49	n	1891
411	OUT	6,8	14	70	5,55	n	910
439	OUT	6,8	14	70	3,17	n	354
748	OUT	6,7	15	72	5,32	n	3228
811	OUT	6,9	14	80	5,00	n	2148
880	OUT	6,8	15	78	10,12	n	813
899	OUT	6,8	15	72	4,59	n	45
997	OUT	6,9	14	81	3,33	n	1919
1182	OUT	6,8	14	72	4,57	n	102
1408	OUT	6,8	15	72	6,43	n	382
1608	OUT	6,8	15	74	4,32	n	1876

1719	OUT	6,8	15	74	5,18	n	567
1873	OUT	6,6	18	78	4,12	n	3245
2051	OUT	6,7	14	72	7,31	n	1678
2161	OUT	6,8	17	68	3,53	n	4567
2218	OUT	6,7	16	81	8,00	n	98
2284	OUT	6,8	15	68	6,12	n	1865
3071	OUT	6,9	14	80	2,31	n	987
3147	OUT	6,7	17	76	5,46	n	150
3185	OUT	6,8	15	74	5,14	n	436
3211	OUT	6,6	17	72	7,39	n	467
3919	OUT	6,8	15	68	2,45	n	400
4056	OUT	6,9	14	80	5,50	n	839
4083	OUT	6,7	14	72	4,41	n	2345
4201	OUT	6,8	17	70	4,32	n	3456
4274	OUT	6,7	14	76	10,09	n	1097
4342	OUT	6,8	14	72	3,45	n	5030
4457	OUT	6,7	16	72	9,12	n	5494
4461	OUT	6,8	15	78	4,21	n	2988
4515	OUT	6,7	17	74	3,57	n	333
4799	OUT	6,9	15	72	2,12	n	456
4853	OUT	6,8	16	76	5,45	n	14358
4984	OUT	6,7	17	68	5,32	n	5515
5167	OUT	6,8	14	74	8,12	n	217
5475	OUT	6,8	15	74	4,21	n	1775
5561	OUT	6,7	18	72	5,11	n	4567
5612	OUT	6,6	15	78	9,15	n	480
5626	OUT	6,9	15	80	6,15	n	395
5775	OUT	6,8	15	68	5,21	n	1345
6035	OUT	6,6	18	74	3,56	n	4567
6158	OUT	6,8	15	70	4,57	n	2345
6225	OUT	6,9	14	81	6,33	n	567
6271	OUT	6,8	16	80	5,41	n	2307
6412	OUT	6,6	18	72	5,54	n	.

CCS	LAC	PB	SOL	GB	T. lact	N⁰ LACT.	SIL	PAST	CONC.	FENO
144	4,45	2,87	12,07	3,79						
958	4,37	3,34	12,41	3,75						
1164	4,43	3,00	12,05	3,67						
1745	4,34	2,96	12,20	3,96						
270	4,42	3,12	12,18	3,69						
1277	4,20	3,01	11,56	3,45						
2338	4,23	3,60	12,20	3,48						
338	4,18	2,99	10,76	2,71						

1117	4,16	3,12	11,86	3,67						
112	4,36	3,10	11,35	2,97						
732	4,43	3,20	12,42	3,83						
433	4,38	3,09	12,04	3,64						
101	4,40	3,05	12,05	3,65						
2376	4,21	3,05	11,51	3,36						
519	4,02	2,95	11,37	3,53						
673	4,08	3,07	11,70	3,67						
448	4,37	2,90	11,76	3,56						
3045	4,11	2,71	12,39	4,63						
1316	4,27	2,99	11,84	3,66						
488	4,28	2,85	11,70	3,65						
345	4,32	3,01	12,34	4,02						
451	4,38	3,04	11,92	3,55						
1133	4,38	3,03	11,77	3,42						
493	4,19	3,02	11,74	3,62						
582	4,36	3,17	11,61	3,17						
401	4,21	2,86	11,40	3,43						
940	4,32	2,80	11,53	3,49						
580	4,27	3,00	12,08	3,88						
453	4,30	2,85	11,27	3,21						
464	4,25	2,82	11,07	3,11						
368	4,43	3,10	12,21	3,74						
712	4,41	3,22	12,61	4,02						
767	4,06	2,70	10,86	3,23						
615	4,17	3,05	13,55	5,36						
3410	3,76	2,89	11,02	3,10						
111	4,36	2,31	11,45	3,84						
612	4,30	3,10	11,82	3,24						
1485	3,86	2,75	12,87	5,36						
529	4,40	2,98	12,08	3,74						
722	4,47	3,25	12,49	3,82						
930	4,32	2,81	11,65	3,59						
1003	4,02	2,97	11,89	4,12						
597	4,30	3,07	11,59	3,30						
121	4,49	3,01	12,53	4,06						
144	4,44	3,10	11,77	3,29						
270	4,25	2,83	11,60	3,62						
820	4,30	2,83	11,43	3,38						
590	4,52	2,91	11,98	3,60						
1452	4,48	3,05	12,02	3,53						
1806	4,32	3,16	11,81	3,40						
217	4,35	2,90	11,83	3,67	2	4	1	0	1	0
911	4,22	3,25	12,05	3,68	4	4	1	1	1	0

638	4,44	3,75	12,22	3,75	10	6	1	0	1	0
1050	4,45	2,88	11,91	3,63	8	8	1	1	1	0
383	4,48	3,08	12,14	3,63	8	8	1	0	1	0
1302	4,34	2,93	11,69	3,50	10	6	1	1	1	0
656	4,32	2,94	11,59	3,41	8	6	1	1	1	0
643	4,15	3,19	11,10	2,94	8	8	1	0	1	0
467	4,10	2,98	11,12	3,47	10	8	1	1	1	0
470	4,20	3,13	12,60	4,40	4	6	1	0	1	0
610	4,40	3,22	12,25	3,70	6	6	1	1	1	0
537	4,45	3,06	12,10	3,64	8	6	1	0	0	0
110	4,40	2,98	11,92	3,63	4	6	1	1	1	0
1127	4,26	2,92	11,43	3,35	4	4	1	0	1	0
930	3,95	3,11	11,98	4,07	8	4	1	1	1	0
595	4,12	3,12	11,34	3,24	6	8	0	1	1	0
370	4,44	2,92	11,91	3,63	8	6	1	1	0	0
944	4,31	3,02	12,20	3,93	4	8	1	0	1	0
146	4,39	2,97	11,88	3,58	10	8	1	0	1	0
376	4,17	3,34	12,01	3,65	6	6	1	1	1	0
2247	4,16	3,00	12,27	4,19	8	4	1	1	1	0
357	4,54	2,88	11,58	3,22	4	6	1	1	0	0
252	4,46	3,00	11,84	3,44	10	6	1	1	1	0
789	4,15	3,03	11,70	3,57	8	6	1	1	1	0
1234	4,00	3,09	11,45	3,45	8	6	1	1	0	0
690	4,40	2,98	11,78	3,46	10	8	1	1	1	0
378	4,36	2,98	11,78	3,37	6	6	1	1	1	0
559	4,19	2,91	11,84	3,76	8	4	1	1	1	0
419	4,29	2,93	11,39	3,29	10	4	1	0	1	0
521	4,13	3,05	11,89	3,65	4	4	1	1	0	0
1460	4,06	3,03	11,66	3,68	8	6	1	0	1	0
823	4,44	3,10	12,07	3,61	8	6	1	1	1	0
1078	4,11	2,68	10,73	3,09	10	8	1	1	0	0
287	4,10	3,24	12,27	4,01	8	6	1	0	1	0
2897	3,78	2,87	10,89	3,07	8	4	1	0	1	0
400	4,45	2,88	11,90	3,62	8	6	1	1	0	0
612	4,30	3,07	11,95	3,50	8	6	1	1	1	0
787	4,20	2,87	11,98	3,57	8	6	1	0	1	0
544	4,39	2,90	11,74	3,54	10	6	1	1	0	0
286	4,50	2,82	11,74	3,49	8	4	0	1	1	0
646	4,44	2,80	11,80	3,63	8	4	1	0	1	0
358	4,61	3,41	11,68	2,50	8	6	1	1	1	0
582	4,31	3,13	11,57	3,23	4	6	1	0	0	0
51	4,53	3,02	12,53	4,03	10	6	1	1	1	0
536	4,44	2,83	11,46	3,27	4	4	1	1	0	0
.	8	4	1	0	1	0

1000	4,08	2,85	11,19	3,41	10	6	1	1	1	0
2425	3,98	2,49	13,79	6,41	8	4	1	1	0	0
806	4,50	2,96	11,99	3,59	6	6	1	1	1	0
2005	4,39	3,13	11,73	3,29	8	6	1	1	1	0
201	4,34	2,92	11,97	3,60						
879	4,32	3,29	12,01	3,51						
1098	4,35	3,02	11,98	3,60						
1620	4,25	3,00	12,01	3,73						
302	4,36	3,24	12,30	3,50						
1209	4,23	3,04	11,67	3,38						
2357	4,27	3,64	12,28	3,40						
438	4,03	2,92	10,54	2,64						
1023	4,24	3,21	12,04	3,70						
204	4,45	3,12	11,78	3,01						
689	4,40	3,25	12,06	3,78						
402	4,32	3,17	12,09	3,52						
150	4,41	3,02	12,01	3,59						
2267	4,12	3,10	11,64	3,45						
539	4,00	2,98	11,23	3,45						
789	4,02	3,08	11,58	3,61						
521	4,30	2,92	11,65	3,47						
2812	4,15	2,82	12,56	4,64						
1567	4,23	2,97	11,65	3,52						
420	4,26	2,92	11,78	3,68						
2435	4,10	3,03	12,09	4,01						
402	4,35	2,68	11,40	3,25						
1021	4,40	3,15	11,98	3,54						
456	4,21	3,10	11,86	3,56						
490	4,37	3,15	11,68	3,16						
405	4,20	2,93	11,36	3,40						
1001	4,28	2,86	11,65	3,56						
593	4,28	3,01	12,10	3,92						
410	4,31	2,82	11,26	3,20						
451	4,23	2,83	11,09	3,12						
788	4,21	2,94	11,64	3,65						
745	4,43	3,10	12,24	3,86						
986	4,03	2,87	11,06	3,20						
615	4,17	3,05	13,55	5,36						
1890	3,98	2,98	11,06	3,49						
380	4,38	2,78	11,62	3,59						
1023	4,35	3,19	11,98	3,56						
624	4,10	3,00	11,89	4,02						
1282	4,32	3,11	12,15	3,70						
387	4,40	3,01	12,11	3,74						

567	4,30	3,01	11,80	3,57
943	4,06	2,98	12,08	4,20
575	4,28	3,08	11,76	3,48
324	4,45	3,02	12,36	3,94
390	4,46	2,97	12,12	3,87
270	4,25	2,83	11,60	3,62
789	4,12	2,85	11,87	3,87
478	4,51	3,01	12,01	3,78
1034	4,35	3,06	12,01	3,67
1806	4,32	3,16	11,81	3,40
144	4,45	2,87	12,07	3,79
993	4,45	3,12	12,12	3,61
1164	4,43	3	12,05	3,67
1434	4,28	3,12	12,34	3,65
245	4,40	3,32	12,45	3,56
1099	4,30	3,05	11,98	3,56
2338	4,23	3,6	12,2	3,48
567	4,12	3,01	11,45	3,10
1243	4,20	3,28	12,35	3,86
205	4,50	3,21	12,45	3,30
732	4,43	3,2	12,42	3,83
559	4,45	3,28	12,26	3,45
228	4,45	3,05	12,35	3,70
2376	4,21	3,05	11,51	3,36
689	4,12	3,01	12,23	3,65
856	4,10	3,10	12,23	3,56
448	4,37	2,9	11,76	3,56
3045	4,11	2,71	12,39	4,63
1316	4,27	2,99	11,84	3,66
578	4,30	3,07	11,98	3,54
1788	4,15	3,08	12,35	3,98
590	4,33	2,99	11,67	3,45
998	4,38	3,23	12,54	3,67
542	4,32	3,17	12,45	3,32
467	4,41	3,23	12,38	3,28
435	4,23	3,01	11,76	3,50
940	4,32	2,8	11,53	3,49
.
453	4,3	2,85	11,27	3,21
.
368	4,43	3,1	12,21	3,74
712	4,41	3,22	12,61	4,02
1034	4,21	3,01	12,45	3,32
987	4,32	3,10	13,23	4,86

3410	3,76	2,89	11,02	3,1
111	4,36	2,31	11,45	3,84
987	4,37	3,28	12,23	3,40
534	4,21	3,10	12,35	3,87
998	4,39	3,26	12,48	3,67
722	4,47	3,25	12,49	3,82
930	4,32	2,81	11,65	3,59
1034	4,10	3,04	12,34	4,13
597	4,3	3,07	11,59	3,3
121	4,49	3,01	12,53	4,06
144	4,44	3,1	11,77	3,29
270	4,25	2,83	11,6	3,62
897	4,15	3,01	12,34	3,98
590	4,52	2,91	11,98	3,6
978	4,45	3,10	12,23	3,87
2345	4,39	3,10	12,10	3,54
256	4,31	3,04	12,39	3,99
1210	4,3	3,25	12,51	4
456	4,57	3,20	12,65	3,70
489	4,50	3,36	12,78	3,98
113	4,42	3,03	12,45	4,10
789	4,10	3,01	12,09	3,76
99	2,34	3,29	12,10	3,66
973	4,1	3,23	11,6	3,4
2762	4,04	3,14	11,62	3,56
198	4,40	3,28	12,10	3,45
1549	3,2	3,32	9,65	2,33
788	4,50	3,18	12,23	3,62
98	4,23	3,10	12,21	3,45
1205	4,26	3,02	11,82	3,61
435	4,10	3,10	12,90	4,34
123	4,32	3,35	12,76	3,78
456	4,40	3,10	12,08	3,65
1138	4,37	3,17	12,37	3,88
234	4,38	3,06	12,32	3,98
324	4,23	3,45	12,23	3,65
435	4,20	3,70	12,98	3,99
768	4,35	3,10	12,01	3,54
1965	4,10	3,23	12,10	3,43
567	4,21	2,10	12,19	3,55
321	4,10	3,21	12,21	3,98
456	4,46	3,87	12,10	3,45
907	4,34	3,01	11,87	3,57
678	4,33	3,17	12,56	3,77

123	4,45	3,25	12,10	3,45						
456	4,21	3,10	12,09	3,65						
1722	4,05	3,12	11,79	3,71						
456	4,45	3,15	12,54	4,10						
989	4,10	3,10	11,50	3,56						
456	4,10	3,01	12,98	4,67						
1456	4,10	3,04	11,56	3,56						
112	4,20	3,09	12,10	3,45						
794	4,35	3,13	12	3,57						
1613	4,06	2,98	13,63	5,64						
1456	4,10	3,30	12,24	3,98						
123	4,37	3,12	12,17	3,67						
546	4,29	3,19	12,10	3,45						
234	4,57	3,87	13,56	4,23						
345	4,32	3,15	12,45	3,67						
123	4,41	3,14	12,41	4,01						
1100	3,95	2,88	11,22	3,52						
345	4,23	2,98	12,98	4,35						
890	4,2	3,01	11,48	3,37						
687	4,32	3,09	12,89	4,65						
983	4,44	3,33	12,39	3,35						
2342	4,29	3,27	11,96	3,46						
352	4,14	3,02	12,10	4,03	4	4	1	0	1	0
1016	4,38	3,23	12,43	3,89	8	4	1	1	1	0
567	4,53	3,12	12,50	3,88	2	6	1	0	0	0
594	4,41	3,13	12,35	3,85	10	8	1	1	1	0
1279	4,43	3,18	12,53	3,96	8	8	1	0	1	0
2070	4,15	3,08	11,93	3,80	4	4	1	0	1	0
709	4,37	3,08	11,93	3,54	10	6	1	1	1	0
540	3,98	3,06	10,08	3,01	8	8	1	0	1	0
1941	4,01	3,18	11,51	3,46	2	4	1	0	1	0
346	4,28	3,57	12,45	3,65	4	6	1	0	1	0
584	4,35	3,25	11,51	2,98	8	6	1	1	1	0
451	4,39	3,15	12,08	3,60	10	6	1	0	0	0
166	4,35	3,10	11,95	3,62	6	6	1	0	1	0
1546	4,24	3,03	11,69	3,51	6	4	1	0	1	0
434	4,04	3,01	11,41	3,52	10	4	1	1	1	0
450	4,24	2,93	11,49	3,41	8	8	0	1	1	0
631	4,35	3,09	11,91	3,58	8	6	1	1	0	0
2193	4,31	3,31	12,46	3,88	4	8	1	0	1	0
264	4,07	2,88	11,42	3,58	2	4	1	0	1	0
371	4,21	3,04	12,09	3,91	8	6	1	0	1	0
725	3,90	2,74	11,83	4,32	10	4	1	1	1	0
266	4,55	3,21	12,40	3,66	6	6	1	1	0	0

1282	4,14	3,36	12,47	4,05	4	8	1	0	0	0
938	4,01	2,89	11,45	3,68	10	6	1	0	1	0
425	4,15	3,16	11,25	3,07	8	6	1	1	0	0
599	4,24	3,05	11,86	3,64	4	4	1	1	1	0
945	4,26	3,08	12,09	3,82	8	6	1	1	1	0
456	4,45	3,08	12,12	3,67	8	4	1	1	1	0
842	4,36	3,13	11,86	3,44	2	6	1	0	1	0
559	4,34	3,01	11,81	3,53	8	4	1	1	0	0
959	4,05	3,26	11,80	3,60	10	6	1	0	1	0
444	4,48	2,91	12,36	4,01	8	6	1	1	1	0
1490	4,01	2,52	10,73	3,35	4	6	1	1	0	0
270	4,26	3,10	11,62	3,34	8	6	1	0	1	0
.	8	4	1	0	1	0
751	4,42	3,07	11,99	3,55	10	6	1	0	0	0
571	4,38	3,53	13,17	4,28	8	6	1	1	1	0
840	4,27	3,06	12,40	4,14	8	6	1	0	1	0
701	4,53	3,18	12,18	3,50	4	8	1	1	0	0
581	4,23	3,23	12,40	4,01	8	4	0	1	1	0
1338	4,30	3,06	11,96	3,66	10	4	1	0	1	0
.	8	6	1	1	1	0
487	4,25	3,15	11,64	3,32	6	6	1	0	0	0
338	4,47	3,09	12,59	4,06	4	4	1	1	1	0
262	4,15	3,19	11,71	3,46	6	4	1	1	0	0
393	3,88	3,51	11,35	3,12	8	4	1	0	1	0
1670	4,14	2,88	11,42	3,51	2	8	1	1	1	0
730	4,54	3,13	12,49	3,88	8	4	1	1	0	0
1620	4,37	3,28	12,56	3,95	6	6	1	1	1	0
3713	4,30	3,28	12,32	3,80	8	6	1	1	1	0
456	4,45	3,07	12,67	3,97						
1025	4,29	3,4	13,05	4,4						
1065	4,48	3,16	12,38	3,78						
430	4,47	3,51	12,98	3,98						
98	4,56	3,23	12,98	3,76						
987	4,21	3,21	12,45	3,24						
1345	4,27	3,01	12,32	3,65						
876	4,38	3,19	12,45	3,87						
698	4,21	3,25	12,87	3,67						
547	4,52	3,34	12,55	3,90						
879	4,44	3,21	12,47	3,76						
657	4,59	3,19	12,40	3,78						
175	4,28	3,34	12,48	3,95						
1034	4,29	3,11	11,89	3,59						
1324	4,30	3,16	12,67	3,59						
508	4,24	2,93	11,75	3,69						

567	4,56	3,20	12,98	3,78
1152	4,36	3,36	12,89	4,21
1098	4,40	3,10	12,78	3,95
245	4,31	3,45	12,89	3,91
914	3,81	3,02	11,67	3,99
342	4,60	3,16	12,65	3,32
803	4,37	2,85	11,87	3,64
789	4,28	3,06	12,91	3,98
1345	4,46	3,07	12,99	4,01
378	4,39	3,30	12,76	3,70
467	4,50	3,09	12,87	3,76
753	4,16	2,86	11,47	3,57
654	4,67	3,21	12,98	3,98
567	4,56	3,14	12,78	3,78
849	4,51	3,37	12,8	3,96
816	4,5	3,25	12,7	3,99
1152	4,2	2,69	11,22	3,46
1987	4,06	3,10	12,73	3,55
998	4,10	3,05	12,87	3,49
1134	4,56	3,12	12,71	3,78
1124	4,48	3,28	12,87	3,67
1666	4,29	3,29	14,25	5,73
724	4,58	3,23	12,17	3,42
98	4,41	3,49	12,55	3,67
1348	4,27	3,27	12,9	4,5
987	4,31	3,20	12,87	3,90
67	4,39	3,12	12,45	3,60
467	4,50	3,18	13,10	3,76
321	4,43	3,07	12,78	3,70
657	4,32	3,02	12,81	3,80
697	4,07	3,02	11,62	3,67
300	4,56	3,42	12,78	3,98
1275	4,37	3,38	12,61	3,94
3584	4,24	3,39	12,29	3,73
204	4,41	3,28	12,52	3,9
928	4,42	3,21	12,39	3,82
1470	4,41	3,26	12,52	3,92
450	4,46	3,37	12,68	3,9
799	4,45	3,34	12,85	4,11
958	4,31	3,16	12,11	3,72
838	4,37	3,01	12,18	3,89
117	4,35	2,82	11,43	3,35
699	4,28	3,28	12,98	3,72
1571	4,18	3,18	13,12	4,81

864	4,29	3,34	12,68	4,1
419	4,56	3,36	12,76	3,88
149	4,29	3,35	12,61	4,04
1946	4,36	3,24	12,48	3,95
470	4,15	3,04	12,12	4,02
478	4,33	3,06	11,77	3,47
589	4,31	2,93	11,75	3,59
2432	4,45	3,27	12,85	4,19
134	4,36	3,14	12,13	3,71
831	4,31	3,13	12,54	4,19
3538	3,58	2,33	10,01	2,53
874	4,55	3,04	12,32	3,78
3327	4,25	2,99	11,93	3,78
719	4,17	2,81	11,65	3,79
1462	4,32	3,07	12,14	3,82
804	4,29	3,3	12,42	3,91
377	4,36	2,96	11,97	3,73
546	4,33	3,10	12,80	3,64
849	4,36	3,32	12,32	3,72
148	4,43	2,86	10,73	2,52
617	4,41	4,04	14,32	4,89
1146	4,52	3,3	12,87	4,09
1109	4,2	2,76	11,48	3,65
514	4,24	3,24	12,03	3,66
998	4,13	3,10	12,89	3,60
1292	4,43	3,16	12,51	3,98
467	4,61	3,19	12,89	4,13
740	4,27	3,28	12,51	4,05
559	4,69	3,17	12,43	3,6
492	4,4	3,08	12,22	3,82
1410	4,41	3,19	12,83	4,29
678	4,42	3,30	12,95	3,78
724	4,28	3,5	12,38	3,67
500	4,46	3,24	12,99	4,35
234	4,3	2,74	11,13	3,2
609	4,23	2,79	11,44	3,53
1307	4,31	2,96	11,85	3,67
379	4,57	3,22	12,55	3,8
1549	4,46	3,33	12,6	3,87
701	4,31	3,39	12,25	3,63
397	4,51	3,15	12,6	3,97
1619	4,41	3,3	12,45	3,73
966	4,5	3,17	12,37	3,74
351	4,57	3,31	12,79	3,9

194	4,45	3,17	12,79	4,2
868	4,31	3,21	12,25	3,8
629	4,34	3,06	12,45	4,12
85	4,58	3	12,26	3,72
789	4,20	3,26	12,89	3,68
125	4,48	3,32	12,32	3,55
971	4,29	3,42	12,55	3,87
605	4,52	3,31	12,59	3,78
160	4,38	3,38	12,87	4,15
1551	4,37	3,26	12,5	3,93
435	4,35	3,14	12,71	4,27
497	4,37	3,19	12,35	3,85
468	4,51	2,9	12,16	3,79
1555	4,05	2,51	13,67	4,78
1027	4,46	3,16	12,77	4,19
770	4,34	3	12,01	3,75
4314	3,75	2,17	12,78	3,67
804	4,49	3,1	12,3	3,76
1259	4,34	2,95	12,66	4,46
661	4,13	2,9	11,76	3,84
2229	4,34	3,06	12,25	3,91
880	4,3	3,27	12,61	4,1
514	4,36	3,06	12,32	3,95
770	4,28	3,05	11,18	2,94
602	4,41	3,37	12,49	3,74
454	4,5	2,95	11,95	3,55
968	4,19	3,32	12,64	4,2
856	4,59	3,39	13,14	4,17
1471	4,19	2,9	11,57	3,58
1148	3,92	2,77	10,62	3,1
345	4,42	3,08	12,30	3,90
927	4,48	3,12	12,42	3,87
231	4,59	2,92	12,24	3,79
1092	4,31	3,38	13,96	5,3
1087	4,51	3,2	12,33	3,66
460	4,57	3,03	12,68	4,12
1065	4,47	3,32	13,13	4,36
235	3,65	2,95	13,56	5,43
786	4,27	3,35	12,28	3,73
353	4,51	3,04	12,74	4,22
274	4,32	2,75	11,71	3,72
258	3,65	2,98	12,67	4,62
1185	4,41	2,99	11,84	3,51
341	4,54	3,17	12,48	3,8

819	4,53	3,18	12,61	3,93						
1036	3,88	3,2	11,56	3,64						
227	4,52	3,24	12,81	4,08	8	4	1	1	1	0
983	4,43	3,42	12,64	3,83	10	4	1	1	1	0
791	4,52	3,17	12,5	3,83	4	6	1	1	0	0
268	4,62	3,34	12,94	3,98	4	6	1	1	1	0
166	4,56	3,19	12,93	4,19	10	8	1	1	1	0
613	4,39	3,22	12,5	3,95	8	4	1	0	1	0
582	4,31	2,86	12,21	4,12	4	8	1	1	1	0
226	4,5	2,92	11,91	3,52	8	8	1	1	1	0
345	4,25	3,28	12,90	3,70	6	4	1	1	1	0
318	4,47	3,09	13,71	5,14	6	6	1	1	1	0
842	4,34	3,26	12,58	4,04	10	6	1	1	1	0
390	4,65	3,4	13,06	4	2	4	1	0	0	0
149	4,43	3,38	12,74	3,97	8	6	1	1	1	0
1723	4,38	3,31	12,57	3,93	8	4	1	1	1	0
473	4,22	3,31	12,8	4,4	2	6	1	1	1	0
400	4,43	3,35	12,67	3,93	10	8	1	1	1	0
316	4,51	2,96	12,03	3,58	8	6	1	1	0	0
874	4,46	2,88	12,44	4,12	6	8	1	1	1	0
220	4,42	3,24	12,66	4,05	6	4	1	0	1	0
575	4,39	2,89	12,11	3,89	10	6	1	1	1	0
2256	4,12	2,52	14,32	5,21	4	6	1	1	1	0
667	4,46	3,06	12,23	3,73	8	6	1	1	0	0
1140	4,32	2,99	12,01	3,78	8	8	1	1	1	0
.	2	4	1	1	1	0
734	4,34	3,67	11,37	2,4	8	6	1	1	0	0
502	4,41	3,23	13,12	4,51	8	4	1	1	1	0
243	4,43	2,92	12,05	3,76	10	6	1	1	0	0
.	8	4	1	1	1	0
529	4,46	3,25	12,32	3,65	6	6	1	1	1	0
719	4,51	2,78	11,82	3,57	8	4	1	1	0	0
1169	4,34	2,82	11,4	3,33	4	8	1	1	1	0
663	4,56	3,44	13,44	4,45	10	6	1	1	1	0
1907	4,27	3,16	12,49	4,13	6	6	1	1	0	0
429	4,35	3,11	11,89	3,51	8	6	1	0	1	0
298	4,46	3,10	12,36	3,89	10	4	1	1	1	0
483	4,38	3,1	12,33	3,91	4	4	1	1	0	0
370	4,55	3,24	12,73	3,96	8	6	1	1	1	0
318	4,43	3,44	11,2	2,4	10	6	1	1	1	0
1290	4,58	3,05	12,31	3,71	8	8	1	1	0	0
343	4,56	3,08	13,08	4,45	8	4	0	1	1	0
283	4,43	3,3	12,74	4,06	2	6	1	1	1	0
319	4,77	3,44	13,33	4,1	10	6	1	1	0	0

646	4,35	3,33	12,16	3,54	6	6	1	0	0	0
231	4,55	2,95	12,67	4,2	8	4	1	0	1	0
157	4,44	3,14	11,32	2,8	6	4	1	1	0	0
275	4,39	2,7	11,53	3,5	10	4	1	1	0	0
585	4,5	3,12	12,09	3,51	6	8	1	1	1	0
217	4,67	3,06	12,17	3,44	10	4	1	1	0	0
590	4,49	3,21	12,47	3,81	8	6	1	0	1	0
368	4,04	3,29	12,3	4,07	8	6	1	1	1	0
256	4,5	3,08	12,31	3,75						
919	4,46	3,12	12,47	3,91						
792	4,46	3,24	12,21	3,53						
205	4,6	3,29	12,5	3,61						
247	4,49	2,99	12,35	3,9						
555	4,36	2,97	12,03	3,76						
433	4,37	2,91	11,81	3,59						
370	4,56	3,08	12,4	3,78						
546	4,20	3,28	12,98	3,66						
332	4,51	3,09	12,45	3,86						
837	4,44	3,06	12,42	3,95						
268	4,65	3,2	12,57	3,72						
152	4,46	3,26	12,53	3,82						
571	4,5	3,11	12,39	3,8						
539	4,19	3,07	12,26	4,06						
498	4,49	3,49	12,97	3,99						
523	4,49	3	12,19	3,73						
344	4,48	2,79	11,69	3,49						
170	4,47	2,93	11,81	3,47						
527	4,36	2,97	11,98	3,75						
418	4,25	2,98	11,74	3,58						
442	4,51	3,04	12,09	3,57						
604	4,55	2,83	11,97	3,62						
.						
1885	4,38	3,2	12,27	3,71						
1798	4,36	3,13	14,2	5,71						
325	4,45	3,06	12,03	3,59						
1302	4,28	2,99	11,54	3,43						
742	4,48	3,01	11,96	3,51						
565	4,44	2,86	11,9	3,65						
1143	4,3	3,28	12,57	4,03						
761	4,57	3,28	12,91	4,06						
1328	4,38	2,85	11,47	3,3						
747	4,33	2,97	11,94	3,7						
123	4,46	3,09	12,32	3,84						
467	4,45	3,31	12,99	4,23						

612	4,6	3,02	12,48	3,88
963	4,42	3,17	12,14	3,59
925	4,52	3,08	12,41	3,83
275	4,53	3,07	12,62	4,04
1159	4,41	3,21	12,77	4,18
720	4,57	3,56	12,95	3,8
688	4,46	3,25	11,68	3
179	4,51	3,06	12,42	3,88
266	4,44	3	11,68	3,3
535	4,35	2,93	12,03	3,81
945	4,49	3	12,05	3,6
208	4,61	3,04	12,1	3,47
526	4,55	3,12	12,4	3,74
827	4,13	3,27	11,93	3,6
284	4,41	3,1	12,15	3,7
1609	4,56	3,25	12,93	3,92
810	4,49	3,12	12,27	3,71
243	4,55	3,36	12,63	3,75
837	4,48	2,99	12,19	3,78
1144	4,26	2,88	11,41	3,42
558	4,23	2,99	11,72	3,58
159	4,43	2,88	11,48	3,09
456	4,23	3,35	12,86	3,76
405	4,39	3,1	12,37	3,74
1525	4,33	3,17	12,54	3,9
381	4,46	3,08	12,08	3,6
112	4,45	3,17	12,45	3,69
2284	4,38	2,99	11,99	3,67
553	3,99	3,01	11,89	3,82
404	4,46	3,23	12,55	3,71
345	4,10	3,10	13,10	4,10
456	4,45	3,01	12,45	3,30
567	4,39	3,25	12,40	3,81
123	4,43	3,04	12,41	3,92
234	4,45	3,16	12,58	3,98
360	4,42	3,01	12,10	3,30
735	4,38	3,55	12,53	3,44
765	4,21	2,30	12,47	4,33
559	4,36	3,24	12,44	3,7
567	4,10	3,20	12,17	3,76
417	4,4	3,02	11,93	3,58
827	4,47	3,01	12,23	3,84
1134	4,39	2,98	12,01	3,53
678	4,32	3,01	12,98	4,70

124	4,34	3,26	12,34	3,45
907	4,54	3,27	13,13	4,13
2110	4,35	2,9	12,47	4,1
610	4,30	3,17	12,72	4,34
490	4,28	2,71	11,65	3,59
512	4,45	3,23	12,27	3,54
657	4,38	3,27	12,33	3,76
160	4,48	3,3	11,79	2,88
912	4,57	3,1	12,43	3,6
305	4,53	3,06	12,66	3,91
676	4,41	3,12	12,86	4,17
234	4,46	3,09	12,30	3,81
537	4,52	2,92	11,8	3,43
254	4,46	3,18	12,35	3,76
123	4,46	3,30	12,29	3,56
569	4,38	2,80	12,40	4,35
567	4,42	2,90	12,12	3,44
789	4,44	3,15	12,54	3,94
503	4,49	2,99	12,04	3,43

.

DADOS FASE EXPERIMENTAL – EXCEL

Nº	VACA	DIAS LAC	PESO	ECC	PROD	UR	pH	ÁLCOOL %		TCT min	
			Kg	1-5	l/dia		rum	Ph	v/v		°D
1	2443	164	634	3,25	38	6,30	6,4	6,7	78	17	9,56
2	14	180	652	3,25	25	6,10	6,3	6,7	80	16	7,32
3	2	191	610	3,00	25	6,20	6,3	6,7	81	15	5,45
4	140	196	575	3,25	20	6,10	6,4	6,6	78	18	7,12
5	28	207	530	3,00	20	6,10	6,5	6,7	81	17	6,11
6	64	216	550	3,00	25	6,00	6,5	6,8	81	15	7,21
7	13	184	624	3,00	25	6,10	6,4	6,6	81	18	6,45
8	127	207	680	3,50	18	6,00	6,3	6,6	78	17	4,21
9	149	174	540	3,25	18	6,20	6,7	6,7	81	17	6,31
10	78	168	577	3,00	20	6,10	6,6	6,7	80	17	4,54
11	117	199	570	3,00	24	6,20	6,6	6,6	76	18	7,29
12	19	201	623	3,00	20	6,20	6,7	6,8	81	14	6,26
13	222	196	548	3,25	21	6,10	6,7	6,7	81	16	7,45
14	116	194	550	3,00	20	6,00	6,6	6,6	81	17	4,52
15	40	211	600	3,00	19	6,10	6,7	6,6	81	17	7,38
16	114	196	736	3,25	23	6,20	6,7	6,8	80	17	8,46
17	111	218	490	3,25	20	6,20	6,5	6,7	81	18	5,27
18	109	191	410	3,25	19	6,20	6,6	6,8	81	14	6,37
19	26	164	665	3,00	27	6,00	6,6	6,6	81	17	5,45
20	120	216	533	3,25	30	6,00	6,7	6,6	81	16	7,32
21	122	210	630	3,25	22	6,20	6,6	6,7	81	15	7,21
22	128	171	577	3,50	29	6,20	6,5	6,8	81	17	8,15
23	4	220	510	3,25	24	6,10	6,6	6,6	81	18	7,45
24	11140	136	568	3,25	23	6,10	6,5	6,6	81	18	6,12

FERV	CCS x 1000	CBT	PB %	LACT %	SOL %	GB %	UR	GLI	UR	P
		x 1000					LEITE mg/dL	SANG mg/dL	SANG mg/dL	SANG mg/dL
n	123	587	3,20	4,42	12,87	3,86	23,2	40,28	42,58	5,44
n	546	1001	3,38	4,68	13,48	4,10	22,3	54,94	45,02	7,50
n	356	989	3,60	4,80	13,20	3,98	21,5	61,84	48,86	6,93
n	421	1345	3,20	4,75	12,65	3,76	18,5	51,61	46,54	6,08
n	90	245	2,98	4,67	11,35	3,20	22,4	48,71	39,09	7,84
n	101	121	3,01	4,56	12,10	3,40	24,3	60,78	41,83	8,59
n	56	106	3,01	4,86	12,99	4,10	22,2	61,24	39,53	7,77
n	312	145	3,32	4,60	12,80	3,90	20,2	54,77	44,24	7,02
n	167	92	3,12	4,90	12,69	3,98	20,2	53,66	34,22	8,86
n	190	73	3,24	4,78	12,78	3,60	18,8	57,69	29,84	6,90
n	187	367	3,40	4,88	13,79	4,44	20,2	53,63	40,90	7,75
n	437	210	3,01	4,60	12,01	3,98	24,5	63,36	41,12	6,43
n	217	98	3,40	4,70	13,45	4,53	21,4	65,15	39,79	8,60
n	421	52	3,02	4,51	12,29	3,76	24,1	50,67	29,84	7,06
n	87	69	3,35	4,76	13,32	4,21	17,2	47,62	40,16	8,27
n	134	85	3,40	4,90	13,68	4,38	23,2	50,99	43,06	6,74
n	54	234	3,08	4,80	12,77	3,89	17,1	62,98	35,06	9,74
n	198	148	3,30	4,78	13,89	4,65	19,2	62,89	35,22	7,99
n	234	96	3,32	4,66	12,97	3,89	18,8	58,30	37,16	7,90
n	88	58	3,12	4,91	12,77	3,65	21,1	61,41	42,76	8,37

n	279	158	3,15	4,73	12,65	3,55	19,4	58,34	44,14	7,05
n	168	70	3,13	4,76	13,05	4,07	26,1	56,96	42,33	5,72
n	111	28	3,31	4,80	12,58	3,98	20,1	65,86	40,44	8,40
n	145	103	3,28	4,79	12,26	3,89	20	66,88	43,29	8,46

Ca	Ca	Na	Cl	P	Mg	K
SANG	leite	leite	leite	leite	leite	leite
mg/dL	ppm	mg/kg	mg/kg	%	ppm	ppm
5,16	2619,5	430,2	.	0,07	33,1	1687,7
6,10	2744,5	411,9	.	0,06	34,4	1861,6
5,98	2720,3	445,7	.	0,07	34,4	1801,7
5,17	2667,3	452,5	.	0,06	36,3	1829,2
5,78	2607,3	423,9	.	0,07	34,5	1637,5
6,49	2780,6	410,5	.	0,06	35,5	1802,9
5,85	2742,9	452,5	.	0,07	34,7	1829,2
5,98	2803,2	435,2	.	0,06	35,2	1722,3
6,09	2626,7	451,2	.	0,07	35,4	1659,1
5,63	2685,1	426,2	.	0,06	36,6	1912,1
5,95	2705,1	419,8	.	0,07	35,4	1779,5
5,84	2724,1	448,9	.	0,07	35,3	1876,4
6,06	2660,1	445,0	.	0,07	34,1	1706,8
6,07	2565,4	418,5	.	0,06	35,9	1916,8
5,91	2762,2	420,1	.	0,07	35,4	1729,6
6,00	2793,8	434,2	.	0,07	33,3	1738,4
6,41	2794,7	430,8	.	0,07	35,5	1813,9
5,58	2712,1	424,9	.	0,07	36,2	1821,2
5,88	2639,4	429,1	.	0,07	34,2	1645,7
6,80	2689,7	431,6	.	0,07	34,1	1711,2
6,40	2509,4	439,3	.	0,06	34,1	1684,6
5,55	2563	445,5	.	0,07	36,8	1745,8
5,97	2672,6	429,3	.	0,07	34,4	1793,6
6,21	2605,1	428,8	.	0,07	34,4	1823,9

DADOS LACTOSE - EXCEL

AMOST	DATA	PH	DORNIC	ÁLCOOL	TCT	FERV	CBT	CCS	LAC	LAC Q	PB	SOL	GB
899	SET	6,9	14	80	4,32	n	426	152	4,46	4,40	3,26	12,53	3,82
997	SET	6,8	14	80	5,32	n	203	571	4,50	4,55	3,11	12,39	3,80
1182	SET	6,7	16	70	3,54	n	2656	539	4,19	4,24	3,07	12,26	4,06
1408	SET	6,8	15	78	5,45	n	283	498	4,49	4,43	3,49	12,97	3,99
1608	SET	6,6	18	80	3,56	n	1623	523	4,49	4,39	3,00	12,19	3,73
1719	SET	6,8	15	81	8,42	n	4848	344	4,48	4,51	2,79	11,69	3,49
1873	SET	6,6	18	70	3,00	n	159	170	4,47	4,45	2,93	11,81	3,47
2051	SET	6,8	17	68	6,12	n	355	527	4,36	4,40	2,97	11,98	3,75
2161	SET	6,7	16	70	4,54	n	6619	418	4,25	4,22	2,98	11,74	3,58
2218	SET	6,8	18	78	8,23	n	3839	442	4,51	4,46	3,04	12,09	3,57
1719	OUT	6,8	15	74	5,18	n	567	456	4,45	4,47	3,01	12,45	3,30
1873	OUT	6,6	18	78	4,12	n	3245	567	4,39	4,40	3,25	12,40	3,81
2051	OUT	6,7	14	72	7,31	n	1678	123	4,43	4,40	3,04	12,41	3,92
2161	OUT	6,8	17	68	3,53	n	4567	234	4,45	4,40	3,16	12,58	3,98
2218	OUT	6,7	16	81	8,00	n	98	360	4,42	4,39	3,01	12,10	3,30
2284	OUT	6,8	15	68	6,12	n	1865	735	4,38	4,41	3,55	12,53	3,44
3071	OUT	6,9	14	80	2,31	n	987	765	4,21	4,28	2,30	12,47	4,33
3147	OUT	6,7	17	76	5,46	n	150	559	4,36	4,33	3,24	12,44	3,70
3185	OUT	6,8	15	74	5,14	n	436	567	4,10	4,20	3,20	12,17	3,76
3211	OUT	6,6	17	72	7,39	n	467	417	4,40	4,40	3,02	11,93	3,58
3919	OUT	6,8	15	68	2,45	n	400	827	4,47	4,44	3,01	12,23	3,84
4056	OUT	6,9	14	80	5,50	n	839	1134	4,39	4,40	2,98	12,01	3,53

DADOS PROTOCOLO CAPILARES – EXCEL

AMOSTRA	PH	ACIDEZ	ÁLCOOL	TCT/G	TCT/P
1	6,6	18	76	9,28	7,32
2	6,7	18	81	9,32	5,15
3	6,7	17	81	10,54	6,21
4	6,6	18	81	5,56	8,40
5	6,8	15	80	7,45	9,17
6	6,9	15	81	6,01	6,38
7	6,6	16	68	7,12	8,00
8	6,7	18	80	1,20	2,30
9	6,7	17	81	3,26	5,10
10	6,8	15	81	4,05	6,30
11	6,6	18	80	2,00	5,12
12	6,7	16	70	8,40	10,31
13	6,6	17	80	9,57	14,23
14	6,7	15	78	5,53	8,21
15	6,6	18	72	7,15	7,30
16	6,7	18	81	9,21	10,00
17	6,6	18	80	8,45	9,20
18	6,7	18	81	10,30	9,50
19	6,6	17	80	9,32	12,54
20	6,7	17	81	9,50	12,09
21	6,6	18	81	2,16	8,21
22	6,7	18	80	4,31	8,08
23	6,8	16	80	1,54	5,28
24	6,8	18	81	6,09	6,50
25	6,8	15	81	8,21	1,10
26	6,7	17	80	3,11	7,13
27	6,8	16	78	4,40	2,35
28	6,7	18	80	6,04	3,52
29	6,8	17	78	5,49	10,01
30	6,6	18	76	2,20	6,09
31	6,7	17	78	5,25	6,20
32	6,7	18	74	3,35	5,50
33	6,8	16	76	3,35	5,50
34	6,8	14	68	2,58	7,15
35	6,8	17	78	2,54	8,30
36	6,7	18	78	7,15	5,25
37	6,7	16	76	7,33	6,05
38	6,6	18	70	4,06	7,17
39	6,7	17	78	4,55	8,35
40	6,8	14	78	6,07	7,40
41	6,7	18	70	2,19	4,10
42	6,8	17	78	4,58	9,18
43	6,7	16	80	3,58	7,43
44	6,8	17	81	3,20	5,45
45	6,7	16	80	2,54	4,15
46	6,8	17	78	4,43	6,33
47	6,8	15	70	2,55	5,54
48	6,7	17	76	5,20	6,23
49	6,7	16	80	5,07	7,08
50	6,8	16	80	4,33	6,44

51	6,6	18	78	4,13	5,47
52	6,7	18	80	9,25	7,43
53	6,8	14	78	7,12	8,14
54	6,8	14	76	4,50	5,18
55	6,7	16	76	7,21	8,55
56	6,8	17	81	6,54	5,45
57	6,6	17	78	9,30	10,55
58	6,8	15	74	3,45	5,17
59	6,9	14	80	8,10	10,24
60	6,7	16	76	9,56	11,00
61	6,7	16	74	7,15	9,45
62	6,6	18	81	3,45	4,55
63	6,7	18	81	6,40	8,21
64	6,8	14	80	7,20	8,20
65	6,6	18	78	3,23	5,56
66	6,7	17	80	2,34	5,12
67	6,7	16	81	4,19	6,33
68	6,6	18	76	2,29	4,19
69	6,8	16	80	5,36	4,54
70	6,7	16	78	8,11	7,59
71	6,8	16	81	4,40	3,35
72	6,7	15	76	3,20	4,07
73	6,6	16	74	4,20	2,40
74	6,8	16	78	7,24	8,50
75	6,7	15	72	5,41	9,15
76	6,7	17	76	2,30	8,10
77	6,6	18	74	5,45	10,07
78	6,6	18	72	2,15	4,20
79	6,7	16	81	3,40	8,40
80	6,6	18	74	5,30	7,03
			μ	5,41	6,95

15	6,8	15	1	1	1	1	2	2	2	4,22
15A	6,6	16	3	3	3	3	3	3	3	0,42
15B	6,4	16	1	1	1	1	1	1	1	2,45
16	6,6	14	2	2	3	3	4	4	4	6,58
16A	6,7	15	4	4	5	5	5	5	5	0,59
16B	6,6	14	1	1	1	1	2	2	2	6,38
17	6,4	17	3	3	4	4	4	5	5	2,30
17A	6,3	18	5	5	5	5	5	5	5	0,25
17B	6,4	17	3	3	3	4	4	4	4	2,20
18	6,8	17	2	2	2	2	2	3	3	8,57
18A	6,7	17	2	3	3	4	4	4	5	0,32
18B	6,8	17	1	1	1	2	2	2	2	9,28
19	6,8	15	2	2	3	3	4	4	4	1,09
19A	6,9	15	3	3	4	4	5	5	5	0,59
19B	6,8	15	1	2	2	3	3	3	3	4,04
20	6,8	17	3	3	3	4	4	5	5	2,31
20A	6,5	18	3	3	4	4	5	5	5	0,32
20B	6,7	17	2	2	2	3	3	4	4	5,11
21	6,9	14	2	2	3	4	4	4	4	4,26
21A	6,7	16	3	3	4	4	5	5	5	0,15
21B	6,5	15	1	2	2	3	3	4	4	2,55
22	6,9	15	1	1	1	1	2	2	3	5,58
22A	6,9	16	3	4	4	4	4	5	5	0,46
22B	6,7	14	1	1	1	1	1	1	1	7,20
23	6,5	15	1	2	2	3	3	3	3	4,07
23A	6,6	15	4	4	4	4	4	5	5	0,23
23B	6,8	15	1	1	1	1	1	2	2	4,24
24	6,7	16	1	1	1	1	1	2	2	4,00
24A	6,6	17	3	3	3	3	4	5	5	1,59
24B	6,6	17	1	1	1	1	1	1	1	4,54
25	6,9	14	1	1	1	1	1	1	2	7,02
25A	6,8	15	3	3	3	4	4	4	5	0,23
25B	6,8	15	1	1	1	1	1	1	1	7,43
26	6,8	17	1	1	2	2	3	3	3	2,22
26A	6,6	17	3	3	3	4	4	5	5	0,51
26B	6,8	17	1	1	1	1	1	2	2	3,03
27	6,8	18	2	2	3	3	3	3	3	1,32
27A	6,8	16	3	3	4	4	4	5	5	0,58
27B	6,8	16	2	2	2	2	2	3	3	2,35
28	6,7	15	1	1	2	2	2	3	3	7,33
28A	6,5	17	2	3	4	4	4	4	4	0,25
28B	6,8	15	1	1	1	1	1	1	1	8,09
29	6,7	15	3	3	4	4	4	4	4	3,03
29A	6,6	16	4	4	4	5	5	5	5	0,37

29B	6,7	15	1	2	2	2	3	3	3	4,04
30	6,6	17	3	3	3	3	3	4	4	0,54
30A	6,9	17	3	3	3	3	3	4	5	0,31
30B	6,7	16	2	2	2	3	3	3	3	1,05
31	6,4	17	3	4	4	4	4	4	4	0,21
31A	6,3	20	4	4	4	4	4	4	4	0,14
31B	6,3	19	1	1	1	1	1	1	2	0,58
32	6,7	16	1	1	1	1	1	1	2	1,33
32A	6,9	15	2	2	3	3	4	4	4	0,18
32B	6,7	14	1	1	1	1	1	1	2	1,05
33	6,5	14	1	1	1	1	1	1	2	1,23
33A	6,7	14	3	3	4	4	5	5	5	0,19
33B	6,5	14	1	1	1	1	1	1	1	1,43
34	6,5	17	1	1	1	1	1	1	1	5,52
34A	6,8	16	1	1	1	2	2	2	3	2,45
34B	6,6	14	1	1	1	1	1	1	1	8,35
35	6,4	18	1	1	2	2	3	3	3	5,27
35A	6,7	16	3	4	5	5	5	5	5	1,22
35B	6,8	16	1	1	1	1	2	2	2	8,34
36	6,6	18	1	1	1	2	2	3	3	1,05
36A	6,3	16	5	5	5	5	5	5	5	0,43
36B	6,2	16	1	1	1	1	1	2	2	1,05
37	6,5	15	2	2	3	3	3	3	3	1,48
37A	6,2	15	5	5	5	5	5	5	5	0,29
37B	6,3	14	1	1	1	1	1	1	1	1,20
38	6,6	17	1	1	1	2	2	2	2	4,52
38A	6,4	18	5	5	5	5	5	5	5	0,15
38B	6,7	17	1	1	1	1	1	1	1	8,01
39	6,7	15	1	2	3	3	3	4	4	3,24
39A	6,5	19	5	5	5	5	5	5	5	0,13
39B	6,5	18	1	1	1	1	1	1	1	2,24
40	6,5	17	1	1	1	2	2	3	3	6,19
40A	6,4	18	5	5	5	5	5	5	5	1,38
40B	6,5	17	1	1	1	1	1	1	1	11,23
41	6,6	16	1	1	2	3	3	4	4	8,53
41A	6,6	18	5	5	5	5	5	5	5	0,23
41B	6,8	16	1	1	1	1	1	1	1	9,13
42	6,7	16	3	4	5	5	5	5	5	0,47
42A	6,8	14	5	5	5	5	5	5	5	0,17
42B	6,7	16	1	1	1	1	1	1	2	2,43
43	6,4	18	3	4	4	4	4	4	4	3,24
43A	6,6	17	4	4	5	5	5	5	5	0,14
43B	6,4	16	1	1	1	1	1	1	1	4,37
44	6,7	14	2	3	4	4	4	4	4	1,30

59	6,7	18	2	2	3	3	3	3	3	1,30
59A	6,5	18	3	3	3	4	4	4	5	0,15
59B	6,6	18	1	2	2	3	3	3	3	7,00
60	6,7	15	1	1	1	1	1	1	2	3,10
60A	6,6	15	1	2	2	3	4	4	5	1,01
60B	6,7	15	1	1	1	1	1	1	1	5,13
61	6,7	18	1	1	2	3	4	4	4	5,14
61A	6,7	19	3	3	3	3	4	4	5	0,24
61B	6,7	18	1	1	1	1	1	2	2	7,85
62	6,8	15	1	2	2	2	3	3	3	3,54
62A	6,8	16	4	4	5	5	5	5	5	0,20
62B	6,9	15	1	1	1	1	1	1	1	4,28
63	6,7	16	1	1	2	2	2	2	3	3,22
63A	6,8	16	5	5	5	5	5	5	5	0,17
63B	6,8	16	1	1	1	1	1	2	2	5,45
64	6,9	14	1	1	1	1	1	2	2	2,42
64A	6,9	14	5	5	5	5	5	5	5	0,15
64B	6,8	14	1	1	1	1	1	1	1	2,59
	6,6	17	5	5	5	5	5	5	5	0,49
65A	6,6	18	5	5	5	5	5	5	5	0,25
65B	6,6	17	3	3	4	4	4	5	5	1,35
66	6,8	15	1	1	1	1	2	3	4	2,49
66A	6,7	17	5	5	5	5	5	5	5	0,17
66B	6,8	16	1	1	1	1	1	1	1	3,53
67	6,8	15	2	3	3	3	3	4	5	14,02
67A	6,7	17	3	3	3	4	4	4	4	0,27
67B	6,7	16	1	1	1	1	2	2	2	12,57
68	6,9	14	1	1	1	1	1	1	1	2,54
68A	6,9	16	5	5	5	5	5	5	5	0,52
68B	6,8	15	1	1	1	1	1	1	1	3,32
69	6,8	15	1	1	1	2	3	3	4	4,38
69A	6,8	16	5	5	5	5	5	5	5	0,31
69B	6,8	15	1	1	1	1	1	1	1	6,35
70	6,7	17	2	2	3	3	3	3	3	2,59
70A	6,6	18	3	3	3	4	4	5	5	0,42
70B	6,7	16	1	1	2	2	2	2	2	4,48
71	6,8	16	2	2	3	3	3	3	3	2,53
71A	6,8	17	5	5	5	5	5	5	5	0,27
71B	6,8	16	1	1	1	1	2	3	3	3,59
72	6,8	15	1	1	1	1	1	1	1	1,25
72A	6,8	14	3	3	3	3	4	4	4	0,26
72B	6,8	14	1	1	1	1	1	1	1	1,41
73	6,9	14	1	1	1	1	2	2	3	6,47
73A	6,9	16	5	5	5	5	5	5	5	0,20

73B	6,9	15	1	1	1	1	1	1	1	8,26
74	6,8	14	2	2	3	3	3	4	4	1,58
74A	6,8	15	3	3	4	4	4	5	5	1,12
74B	6,9	14	1	1	2	2	2	3	3	2,23
75	6,8	14	3	3	3	3	4	4	4	7,24
75A	6,8	15	5	5	5	5	5	5	5	0,18
75B	6,9	14	1	1	1	1	2	2	2	8,48
76	6,6	16	1	1	1	1	1	1	2	2,44
76A	6,4	18	5	5	5	5	5	5	5	0,29
76B	6,5	16	1	1	1	1	1	1	1	7,35
77	6,5	18	1	1	1	1	2	3	3	1,42
77A	6,5	18	3	4	5	5	5	5	5	0,23
77B	6,5	17	1	1	1	1	1	1	1	1,45
78	6,7	17	1	1	2	3	3	3	3	3,20
78A	6,7	17	5	5	5	5	5	5	5	0,18
78B	6,8	16	1	1	1	1	2	2	3	2,50
79	6,6	17	1	1	2	3	3	3	3	3,20
79A	6,6	17	5	5	5	5	5	5	5	0,18
79B	6,7	17	1	1	1	1	2	2	3	3,50
80	6,7	17	2	3	3	3	3	3	4	2,57
80A	6,7	17	4	4	4	4	4	5	5	0,21
80B	6,7	17	2	2	2	3	3	3	3	9,36
81	6,8	16	2	2	3	4	4	4	4	1,04
81A	6,6	17	4	5	5	5	5	5	5	0,28
81B	6,7	17	2	2	3	3	3	4	4	5,19
82	6,6	16	1	2	3	3	3	4	4	4,20
82A	6,6	17	4	4	5	5	5	5	5	0,15
82B	6,6	16	1	1	1	1	1	1	2	6,25
83	6,7	15	1	1	1	2	2	3	3	5,21
83A	6,7	15	4	4	4	4	4	4	4	1,45
83B	6,7	14	1	1	1	1	2	2	2	8,31
84	6,7	17	4	4	4	5	5	5	5	1,05
84A	6,7	18	5	5	5	5	5	5	5	0,36
84B	6,7	18	4	5	5	5	5	5	5	1,24
85	6,6	16	4	4	4	4	5	5	5	11,35
85A	6,6	16	4	4	4	4	4	5	5	0,25
85B	6,6	15	2	2	2	3	3	3	4	14,28
86	6,7	14	2	2	3	4	4	4	4	8,02
86A	6,7	15	5	5	5	5	5	5	5	0,57
86B	6,7	15	1	1	1	2	3	3	4	10,00
87	6,6	16	4	4	4	4	5	5	5	9,38
87A	6,7	16	4	4	5	5	5	5	5	0,17
87B	6,7	15	1	1	1	2	3	3	3	11,05
88	6,6	16	2	3	3	4	4	4	5	2,24

88A	6,6	16	3	3	3	4	4	5	5	0,41
88B	6,7	15	1	2	2	2	2	2	3	3,25
89	6,6	16	3	3	4	4	5	5	5	1,48
89A	6,6	17	5	5	5	5	5	5	5	0,35
89B	6,6	16	2	2	2	2	3	3	4	8,35
90	6,7	15	2	2	2	2	3	3	4	4,02
90A	6,7	16	4	4	4	5	5	5	5	1,42
90B	6,6	16	1	1	1	2	2	3	3	5,32
91	6,8	14	1	1	1	1	2	3	3	4,28
91A	6,8	14	3	4	4	4	4	5	5	0,38
91B	6,8	14	1	1	1	1	1	1	2	7,44
92	6,7	15	1	1	1	2	2	2	3	3,39
92A	6,7	15	3	3	3	4	4	4	4	0,15
92B	6,7	15	1	1	1	1	1	2	2	5,12
93	6,8	14	1	1	1	1	1	2	2	5,24
93A	6,8	14	3	3	3	4	4	5	5	0,38
93B	6,8	14	1	1	1	1	1	1	2	6,49
94	6,7	17	1	1	2	2	2	3	3	7,48
94A	6,7	17	2	3	4	4	5	5	5	0,36
94B	6,7	17	1	1	1	2	2	2	3	9,28
95	6,9	15	1	1	1	2	2	2	3	5,27
95A	6,8	16	4	4	4	4	5	5	5	0,44
95B	6,9	15	1	1	1	1	1	1	1	8,49
96	6,8	16	3	4	4	4	5	5	5	3,35
96A	6,8	15	5	5	5	5	5	5	5	0,42
96B	6,8	15	1	1	1	1	2	2	3	4,57
97	6,7	14	1	2	2	2	3	4	4	1,56
97A	6,6	14	4	4	4	5	5	5	5	0,24
97B	6,7	15	1	1	1	2	2	2	3	2,46
98	6,7	14	1	1	1	1	1	1	2	3,47
98A	6,7	15	4	4	4	5	5	5	5	0,16
98B	6,7	15	1	1	1	1	1	1	2	4,02
99	6,8	14	1	1	1	1	1	2	2	4,38
99A	6,8	14	3	3	3	4	4	5	5	0,47
99B	6,8	14	1	1	1	1	1	1	1	7,26
100	6,8	15	1	1	1	1	2	2	2	3,56
100A	6,7	15	5	5	5	5	5	5	5	0,16
100B	6,7	15	1	1	1	1	1	1	1	4,37

DADOS ÁLCOOL EM DIFERENTES TEMPERATURAS – EXCEL

DIA	AMOSTRA	°C	% ETANOL	°D
1	3	4	82	14
1	3	20	82	14
1	69	4	80	15
1	69	20	78	15
1	60	4	82	14
1	60	20	82	14
1	4	4	82	14
1	4	20	82	14
1	26	4	74	17
1	26	20	68	17
1	58	4	76	16
1	58	20	76	16
1	9	4	82	15
1	9	20	82	15
1	72	4	76	16
1	72	20	74	16
1	2	4	82	14
1	2	20	82	14
1	1	4	82	15
1	1	20	82	15
1	41	4	82	14
1	41	20	82	14
1	42	4	82	14
1	42	20	82	14
1	43	4	74	16
1	43	20	74	16
1	44	4	80	15
1	44	20	80	15
1	45	4	82	17
1	45	20	82	17
1	46	4	82	16
1	46	20	82	16
1	47	4	80	17
1	47	20	78	17
1	48	4	82	16
1	48	20	82	16
1	49	4	72	18
1	49	20	74	18
1	50	4	80	15
1	50	20	82	15
1	51	4	82	15
1	51	20	82	15
2	1	4	80	16
2	1	20	82	16
2	2	4	82	15
2	2	20	82	15
2	3	4	78	17
2	3	20	74	17
2	4	4	82	15
2	4	20	82	15

2	5	4	82	14
2	5	20	82	14
2	6	4	82	16
2	6	20	82	16
2	7	4	80	14
2	7	20	76	14
2	8	4	82	15
2	8	20	82	15
2	9	4	82	16
2	9	20	82	16
2	10	4	76	17
2	10	20	80	17
2	11	4	82	17
2	11	20	80	17
2	12	4	74	15
2	12	20	74	15
2	13	4	82	16
2	13	20	82	16
2	14	4	80	14
2	14	20	78	14
2	15	4	82	15
2	15	20	80	15
2	16	4	82	16
2	16	20	82	16
2	17	4	82	15
2	17	20	82	15
2	18	4	74	17
2	18	20	72	17
2	19	4	82	15
2	19	20	82	15
2	20	4	82	15
2	20	20	82	15
3	3333	4	76	18
3	3333	20	78	18
3	402	4	76	18
3	402	20	68	18
3	1852	4	68	17
3	1852	20	68	17
3	364	4	82	14
3	364	20	80	14
3	2334	4	80	15
3	2334	20	78	15
3	899	4	82	16
3	899	20	82	16
3	6353	4	76	16
3	6353	20	78	16
3	462	4	76	18
3	462	20	76	18
3	406	4	82	15
3	406	20	82	15
3	254	4	68	17
3	254	20	68	17

3	2487	4	68	18
3	2487	20	68	18
3	385	4	78	16
3	385	20	78	16
3	1640	4	70	17
3	1640	20	68	17
3	2665	4	68	18
3	2665	20	68	18
3	2652	4	76	16
3	2652	20	76	16
3	1737	4	80	15
3	1737	20	82	15
3	375	4	68	17
3	375	20	68	17
3	2284	4	76	16
3	2284	20	74	16
3	815	4	76	16
3	815	20	74	16
3	43970	4	80	15
3	43970	20	80	15
3	3549	4	68	18
3	3549	20	68	18
3	93	4	70	17
3	93	20	68	17
3	2535	4	72	18
3	2535	20	74	18
3	3371	4	82	15
3	3371	20	82	15
3	2666	4	78	16
3	2666	20	76	16
3	1812	4	82	15
3	1812	20	80	15
3	3317	4	76	16
3	3317	20	74	16
3	1364	4	72	17
3	1364	20	68	17
3	4342	4	76	15
3	4342	20	78	15
3	1424	4	74	18
3	1424	20	74	18
3	3919	4	80	17
3	3919	20	80	17
3	413	4	74	17
3	413	20	68	17
3	3289	4	68	18
3	3289	20	68	18
3	1408	4	78	15
3	1408	20	80	15
3	3406	4	78	16
3	3406	20	78	16
3	143	4	68	18
3	143	20	68	18

3	2667	4	74	17
3	2667	20	72	17
3	567	4	80	15
3	567	20	80	15
3	430	4	74	17
3	430	20	76	17
3	369	4	68	17
3	369	20	68	17
4	25	4	74	16
4	25	20	78	16
4	5377	4	68	18
4	5377	20	70	18
4	1229	4	74	17
4	1229	20	78	17
4	5584	4	82	17
4	5584	20	82	17
4	3895	4	68	16
4	3895	20	68	16
4	191	4	80	15
4	191	20	82	15
4	5091	4	80	15
4	5091	20	80	15
4	5612	4	78	16
4	5612	20	82	16
4	2120	4	68	17
4	2120	20	70	17
4	176	4	70	16
4	176	20	76	16
4	5844	4	74	16
4	5844	20	78	16
4	5034	4	74	17
4	5034	20	76	17
4	4825	4	80	16
4	4825	20	82	16
4	5079	4	74	17
4	5079	20	80	17
4	5093	4	74	16
4	5093	20	76	16
4	4324	4	74	15
4	4324	20	76	15
4	4803	4	80	14
4	4803	20	80	14
4	6038	4	68	16
4	6038	20	68	16
4	208	4	68	17
4	208	20	68	17
4	5138	4	68	16
4	5138	20	70	16
4	4810	4	82	15
4	4810	20	82	15
4	4817	4	80	15
4	4817	20	78	15

4	5944	4	78	16
4	5944	20	80	16
4	880	4	82	17
4	880	20	82	17
4	5058	4	78	16
4	5058	20	82	16
4	481	4	82	15
4	481	20	82	15
4	24	4	72	17
4	24	20	74	17
4	2385	4	70	17
4	2385	20	70	17
4	5066	4	74	15
4	5066	20	74	15
4	6313	4	68	16
4	6313	20	68	16
4	3142	4	74	15
4	3142	20	74	15
4	7473	4	74	16
4	7473	20	68	16
4	5067	4	70	16
4	5067	20	68	16
4	5109	4	68	17
4	5109	20	68	17
4	6026	4	76	15
4	6026	20	76	15
4	5895	4	68	16
4	5895	20	68	16
4	4370	4	74	16
4	4370	20	74	16
4	4056	4	78	18
4	4056	20	78	18
4	4274	4	82	14
4	4274	20	82	14
4	4820	4	80	15
4	4820	20	78	15
4	5475	4	80	15
4	5475	20	82	15
4	5170	4	78	16
4	5170	20	78	16
4	811	4	82	15
4	811	20	82	15
4	4	4	68	17
4	4	20	68	17
4	4811	4	70	17
4	4811	20	70	17
4	5177	4	68	16
4	5177	20	68	16
4	5340	4	82	15
4	5340	20	82	15
4	2678	4	70	16
4	2678	20	70	16

4	5167	4	76	17
4	5167	20	82	17

ANEXOS

ANEXO I

Normas para publicação na revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia

Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação na Revista Brasileira de Zootecnia

A fim de prestigiar a comunidade científica nacional, é importante que os autores citem mais artigos disponíveis na literatura brasileira.

Instruções gerais

A RBZ publica artigos científicos originais nas áreas de Aquicultura, Forragicultura, Melhoramento, Genética e Reprodução, Monogástricos, Produção Animal, Ruminantes, e Sistemas de Produção e Agronegócio.

O envio dos manuscritos é feito exclusivamente pela *home page* da RBZ (<http://www.sbz.org.br>), link Revista, juntamente com a carta de encaminhamento, conforme instruções no link "Envie seu manuscrito".

O texto deve ser elaborado segundo as normas da RBZ e orientações disponíveis no link "Instruções aos autores".

O pagamento da taxa de tramitação (pré-requisito para emissão do número de protocolo), no valor de R\$ 40,00 (quarenta reais), deverá ser realizado por meio de boleto bancário, disponível na *home page* da SBZ (<http://www.sbz.org.br>).

A taxa de publicação para 2009 é diferenciada para associados e não-associados da SBZ. Para associados, será cobrada taxa de R\$ 115,00 (até 8 páginas no formato final) e R\$ 45,00 para cada página excedente. Uma vez aprovado o manuscrito, todos os autores devem estar em dia com a anuidade da SBZ do ano corrente, exceto co-autor que não milita na área zootécnica (estatístico, químico, entre outros), desde que não seja o primeiro autor e que não publique mais de um artigo no ano corrente (reincidência). Para não-associados, serão cobrados R\$ 90,00 por página (até 8 páginas no formato final) e R\$ 180,00 para cada página excedente.

No processo de publicação, os artigos técnico-científicos são avaliados por revisores *ad hoc* indicados pelo Conselho Científico, composto por especialistas com doutorado nas diferentes áreas de interesse e coordenados pela Comissão Editorial da RBZ. A política editorial da RBZ consiste em manter o alto padrão científico das publicações, por intermédio de colaboradores de renomada conduta ética e elevado nível técnico. O Editor Chefe e o Conselho Científico, em casos especiais, têm autonomia para decidir sobre a publicação do artigo.

Língua: português ou inglês

Formatação de texto

O texto deve ser digitado em fonte Times New Roman 12, espaço duplo (exceto Resumo, Abstract e Tabelas, que devem ser elaborados em espaço 1,5), margens superior, inferior, esquerda e direita de 2,5; 2,5; 3,5; e 2,5 cm, respectivamente.

O manuscrito pode conter até 25 páginas, numeradas sequencialmente em algarismos arábicos.

As páginas devem apresentar linhas numeradas (a numeração é feita da seguinte forma: MENU ARQUIVO/ CONFIGURAR PÁGINA/LAYOUT/NÚMEROS DE LINHA.../ NUMERAR LINHAS), com paginação contínua e centralizada no rodapé.

Estrutura do artigo

O artigo deve ser dividido em seções com cabeçalho centralizado, em negrito, na seguinte ordem: Resumo, Abstract,

Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos e Literatura Citada.

Não são aceitos cabeçalhos de terceira ordem.

Os parágrafos devem iniciar a 1,0 cm da margem esquerda.

Título

Deve ser preciso e informativo. Quinze palavras são o ideal e 25, o máximo. Digitá-lo em negrito e centralizado, segundo o exemplo: Valor nutritivo da cana-de-açúcar para bovinos em crescimento. Deve apresentar a chamada "1" somente no caso de a pesquisa ter sido financiada. Não citar "parte da tese"

Autores

Deve-se listar até seis autores. A primeira letra de cada nome/sobrenome deve ser maiúscula (Ex.: Anacleto José Benevenuto). Não listá-los apenas com as iniciais e o último sobrenome (Ex.: A.J. Benevenuto).

Outras pessoas que auxiliaram na condução do experimento e/ou preparação/avaliação do manuscrito devem ser mencionadas em **Agradecimentos**.

Digitar o nome dos autores separados por vírgula, centralizado e em negrito, com chamadas de rodapé numeradas e em sobrescrito, indicando apenas a instituição e/ou o endereço profissional dos autores. Não citar o vínculo empregatício, a profissão e a titulação dos autores. Informar o endereço eletrônico somente do responsável pelo artigo.

Resumo

Deve conter no máximo 1.800 caracteres com espaço. As informações do resumo devem ser precisas e informativas. Resumos extensos serão devolvidos para adequação às normas.

Deve sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. Não deve conter introdução. Referências nunca devem ser citadas no resumo.

O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por RESUMO, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

Abstract

Deve aparecer obrigatoriamente na segunda página e ser redigido em inglês científico, evitando-se traduções de aplicativos comerciais.

O texto deve ser justificado e digitado em espaço 1,5, começando por ABSTRACT, em parágrafo único, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

Palavras-chave e Key Words

Apresentar até seis (6) palavras-chave e Key Words imediatamente após o RESUMO e ABSTRACT, respectivamente, em ordem alfabética. Devem ser elaboradas de modo que o trabalho seja rapidamente resgatado nas pesquisas bibliográficas. Não podem ser retiradas do título do artigo. Digitá-las em letras minúsculas, com alinhamento justificado e separado por vírgulas. Não devem conter ponto final.

Introdução

Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaço. Deve-se evitar a citação de várias referências para o mesmo assunto.

Trabalhos com introdução extensa serão devolvidos para adequação às normas.

Material e Métodos

Descrição clara e com referência específica original para todos os procedimentos biológicos, analíticos e estatísticos. Todas as modificações de procedimentos devem ser explicadas.

Resultados e Discussão

Os resultados devem ser combinados com discussão. Dados suficientes, todos com algum índice de variação incluso, devem ser apresentados para permitir ao leitor a interpretação dos resultados do experimento. A discussão deve interpretar clara e concisamente os resultados e integrar resultados de literatura com os da pesquisa para proporcionar ao leitor uma base ampla na qual possa aceitar ou rejeitar as hipóteses testadas.

Evitar parágrafos soltos e citações pouco relacionadas ao assunto.

Conclusões

Devem ser redigidas em parágrafo único e conter no máximo 1.000 caracteres com espaço.

Não devem ser repetição de resultados. Devem ser dirigidas aos leitores que não são necessariamente profissionais ligados à ciência animal. Devem explicar claramente, sem abreviações, acrônimos ou citações, o que os resultados da pesquisa conduzem para a ciência animal.

Agradecimentos

Deve iniciar logo após as Conclusões.

Abreviaturas, símbolos e unidades

Abreviaturas, símbolos e unidades devem ser listados conforme indicado na *home page* da RBZ, link "Instruções aos autores".

- Usar 36%, e não 36 % (sem espaço entre o nº e %)
- Usar 88 kg, e não 88Kg (com espaço entre o nº e kg, que deve vir em minúsculo)
- Usar 136,22, e não 136.22 (usar vírgula, e não ponto)
- Usar 42 mL, e não 42 ml (litro deve vir em L maiúsculo, conforme padronização internacional)
- Usar 25°C, e não 25 °C (sem espaço entre o nº e °C)
- Usar (P<0,05), e não (P < 0,05) (sem espaço antes e depois do <)
- Usar 521,79 ± 217,58, e não 521,79+217,58 (com espaço antes e depois do ±)
- Usar r² = 0,95, e não r²=0,95 (com espaço antes e depois do =)
- Usar asterisco nas tabelas apenas para probabilidade de P: (*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001)

Deve-se evitar o uso de abreviações não consagradas e de acrônimos, como por exemplo: "o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6". Este tipo de redação é muito cômoda para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor.

Tabelas e Figuras

É imprescindível que todas as tabelas sejam digitadas segundo menu do Word "Inserir Tabela", em células distintas

(não serão aceitas tabelas com valores separados pelo recurso ENTER ou coladas como figura). Tabelas e figuras enviadas fora de normas serão devolvidas para adequação.

Devem ser numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos e apresentadas logo após a chamada no texto.

O título das tabelas e figuras deve ser curto e informativo, devendo-se adotar as abreviaturas divulgadas oficialmente pela RBZ.

A legenda das Figuras (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura. Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses.

Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas, que deve ser referenciada.

As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).

As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometam o entendimento do gráfico.

As figuras devem ser gravadas no programa Word, Excel ou Corel Draw (extensão CDR), para possibilitar a edição e possíveis correções.

Usar linhas com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.

No caso de gráfico de barras, usar diferentes efeitos de preenchimento (linhas horizontais, verticais, diagonais, pontinhos etc). Evite os padrões de cinza porque eles dificultam a visualização quando impressos.

As figuras deverão ser exclusivamente monocromáticas.

Não usar negrito nas figuras.

Os números decimais apresentados no interior das tabelas e figuras devem conter vírgula, e não ponto.

Citações no texto

As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar & (e comercial) e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al.

Comunicação pessoal (ABNT-NBR 10520).

Não fazem parte da lista de referências, sendo colocadas apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão "comunicação pessoal", a data da comunicação, o nome, estado e país da Instituição à qual o autor é vinculado.

Literatura Citada

Baseia-se na Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (NBR 6023).

Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es).

Digitá-las em espaço simples, alinhamento justificado e recuo até a terceira letra a partir da segunda linha da referência. Para formatá-las, siga as seguintes instruções:

No menu FORMATAR, escolha a opção PARÁGRAFO... RECUO ESPECIAL, opção DESLOCAMENTO... 0,6 cm.

Em obras com dois e três autores, mencionam-se os autores separados por ponto-e-vírgula e, naquelas com mais de três autores, os três primeiros vêm seguidos de et al. As iniciais dos autores não podem conter espaços. O termo et al. não deve ser italizado nem precedido de vírgula.

O recurso tipográfico utilizado para destacar o elemento título será negrito e, para os nomes científicos, itálico.

Indica(m)-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado(s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes.

No caso de homônimos de cidades, acrescenta-se o nome do estado (ex.: Viçosa, MG; Viçosa, AL; Viçosa, RJ).

Obras de responsabilidade de uma entidade coletiva

A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura correspondente.

Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não é indicada.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. *Official methods of analysis*. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. *Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG*. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

Livros e capítulos de livro

Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação.

Quando a editora não é identificada, deve-se indicar a expressão *sine nomine*, abreviada, entre colchetes [s.n.].

Quando o editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.L.: s.n.].

LINDHAL, I.L. *Nutrición y alimentación de las cabras*. In: CHURCH, D.C. (Ed.) *Fisiología digestiva y nutrición de los ruminantes*. 3.ed. Zaragoza: Acríbia, 1974. p.425-434.

NEWMANN, A.L.; SNAPP, R.R. *Beef cattle*. 7.ed. New York: John Wiley, 1997. 883p.

Teses e dissertações

Deve-se evitar a citação de teses, procurando referenciar sempre os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados. Entretanto, caso os artigos ainda não tenham sido publicados, devem-se citar os seguintes elementos: autor, título, ano, página, área de concentração, universidade e local.

CASTRO, F.B. *Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado em bovinos*. 1989. 123f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

Boletins e relatórios

BOWMAN, V.A. *Palatability of animal, vegetable and blended fats by equine*. (S.L.): Virginia Polytechnic Institute and State University, 1979. p.133-141 (Research division report, 175).

Artigos

O nome do periódico deve ser escrito por extenso. Com vistas à padronização deste tipo de referência, não é necessário citar o local; somente volume, número, intervalo de páginas e ano.

RESTLE, J.; VAZ, R.Z.; ALVES FILHO, D.C. et al. Desempenho de vacas Charolês e Nelore destemeadas aos três ou sete meses. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.2, p.499-507, 2001.

Congressos, reuniões, seminários etc

Citar o mínimo de trabalhos publicados em forma de resumo, procurando sempre referenciar os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados.

CASACCIA, J.L.; PIRES, C.C.; RESTLE, J. Confinamento de bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p.468.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gnosis, [1999]. (CD-ROM).

Artigo e/ou matéria em meios eletrônicos

Na citação de material bibliográfico obtido via internet, o autor deve procurar sempre usar artigos assinados, sendo também sua função decidir quais fontes têm realmente credibilidade e confiabilidade.

Quando se tratar de obras consultadas *on-line*, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais < >, precedido da expressão "Disponível em:" e a data de acesso do documento, precedida da expressão "Acesso em:".

NGUYEN, T.H.N.; NGUYEN, V.H.; NGUYEN, T.N. et al. [2003]. Effect of drenching with cooking oil on performance of local yellow cattle fed rice straw and cassava foliage. *Livestock Research for Rural Development*, v.15, n.7, 2003. Disponível em: <<http://www.cipav.org.co/lrd/lrd15/7/nhan157.htm>> Acesso em: 28/7/2005.

REBOLLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. Digestión de la soja integral en ruminantes. Disponível em: <http://www.usoyneal.org/ruminant_s.pdf> Acesso em: 12/10/2002.

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. *Anais eletrônicos...* Recife: Universidade Federal do Pernambuco, 1996. Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21/1/1997.

ANEXO II

Normas para publicação de notas técnicas na revista Ciência Rural.

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via [eletrônica](#) editados em idioma Português ou Inglês, todas as linhas deverão ser numeradas e paginados no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm, com no máximo, 25 linhas em espaço duplo, as margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e ilustrações.** Cada figura e ilustração deverá ser enviado em arquivos separados e constituirá uma página (cada tabela também constituirá uma página). **Tabelas, gráficos e figuras não poderão estar com apresentação paisagem.**

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, caso existam devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave e resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:
JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:
GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:
COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.
TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:
Sempre que possível o autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers) conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, nov. 2008 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:
COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre**

bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad). 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose.** São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação

verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos

eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico.** São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos.** Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadros. As figuras devem ser enviadas à parte, cada uma sendo considerada uma página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 800 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não

devem exceder uma lauda. Também devem apresentar a seguinte formatação que se encontra nesse [exemplo](#).

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderão ser utilizados.

13. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.