

**LUÍS CARLOS ARRUDA JUNIOR**

**VARIÁVEIS RELACIONADAS A NÃO CONFORMIDADES EM QUALIDADE DO  
LEITE: BAIXA ACIDEZ TITULÁVEL E BAIXO TEOR DE EXTRATO SECO  
DESENGORDURADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. André Thaler Neto.  
Coorientadora: Prof. Dra. Lídia Cristina Almeida Picinin.

**LAGES  
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com  
auxílio do programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Arruda Junior, Luis Carlos  
Variáveis relacionadas a não conformidades em  
qualidade do leite: baixa acidez titulável e baixo  
teor de extrato seco desengordurado / Luis Carlos  
Arruda Junior. - Lages , 2018.  
184 p.

Orientador: Thaler Neto André  
Co-orientadora: Lídia Cristina Almeida Picinin  
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal, Lages, 2018.

1. Baixa acidez titulável. 2. Extrato seco  
desengordurado. 3. Índice de temperatura e umidade.  
4. Leite hipoácido. 5. Não conformidades do leite.  
I. André, Thaler Neto. II. Picinin, Lídia Cristina  
Almeida. , .III. Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV.  
Título.

**LUÍS CARLOS ARRUDA JUNIOR**

**VARIÁVEIS RELACIONADAS A NÃO CONFORMIDADES EM QUALIDADE DO  
LEITE: BAIXA ACIDEZ TITULÁVEL E BAIXO TEOR DE EXTRATO SECO  
DESENGORDURADO.**

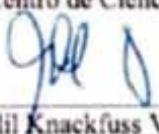
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.

**Banca examinadora:**

Orientador:

  
Prof. Dr. André Thaler Neto - Universidade do Estado de Santa Catarina  
UDESC - Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV

Membro:

  
Prof. Dr. Adil Knackfuss Vaz - Universidade do Estado de Santa Catarina  
UDESC - Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV

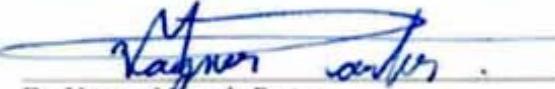
Membro:

  
Dra. Maira Balbinotti Zancla - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Clima Temperado Pelotas - Embrapa CPACT

Membro:

  
Prof. Dr. Cláudio Eduard Neves Semmelmann  
Instituto Federal Catarinense - IFC Campus Concórdia

Membro:

  
Dr. Vagner Miranda Portes  
Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina  
EPAGRI - Xanxerê

Lages, 27 de abril de 2018.



## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**LUIS CARLOS ARRUDA JUNIOR**, filho de Heloiza Helena Córdova Arruda (*in memoriam*) e Luiz Carlos de Arruda, nascido em Lages, Estado de Santa Catarina, Brasil, no dia 10 de fevereiro de 1969. Ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Pelotas (UFPel), em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 1989 e concluiu-o em 1995. Nos anos de 1999 e 2000 cursou Programa de Pós-Graduação Lato Sensu, nível de especialização em Sanidade Animal, com área de concentração em Ruminantes, na Universidade do Estado Santa Catarina - Centro de Ciências Agroveterinárias, (CAV/UDESC), em Lages, Santa Catarina, Brasil, sob o título “Influência da Mastite Sobre a Qualidade do Leite”, sob orientação do Professor Dr Adil Knackfuss Vaz. Nos anos de 2006 e 2007 cursou Programa de Pós-Graduação Lato Sensu, nível de especialização em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável, no Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Pomba (CEFET-RP), em Rio Pomba, Minas Gerais, Brasil, sob o título “Implantação e Manejo de Pastagens em um Sistema de Produção Agroecológico”, sob orientação do professor Dr Maurício Novaes de Souza. De 2009 a 2012 cursou Programa de Pós-Graduação em Educação Agrícola, em nível de mestrado, sob a linha de pesquisa em Educação Agrícola, área de concentração Educação na Produção Animal, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil, sob o título “A Construção de Competências Técnicas e a Qualidade do Leite nas Propriedades de Alunos do Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia”, sob orientação principal do Professor Dr Edinaldo da Silva Bezerra e coorientação da Professora Drª Sandra Barros Sanchez. Em março de 2014 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, em nível de Doutorado, linha de pesquisa em Produção Animal, área de concentração Genética, Melhoramento e Reprodução Animal, na Universidade do Estado Santa Catarina - Centro de Ciências Agroveterinárias, (CAV/UDESC), em Lages, Santa Catarina, Brasil, sob o título “Variáveis relacionadas a não conformidades em qualidade do leite: baixa acidez titulável e baixo teor de extrato seco desengordurado”, sob orientação principal do Professor Dr André Thaler Neto e coorientação da Professora Drª Lídia Cristina Almeida Picinin, obtendo o título de Doutor em Ciência Animal em abril de 2018.



## AGRADECIMENTOS

Ao orientador, Professor Dr. André Thaler Neto. Admiro seu exemplo de entusiasmo, dedicação e incansável trabalho como educador. Tenho convicção de que me foi oportunizado crescimento amplo ao trilhar ao seu lado esta pesquisa. Obrigado por me permitir usufruir de tamanha maturidade pessoal e profissional.

A minha amada esposa Bibiane. Pelo exemplo constante de comunhão, pureza de coração, companheirismo e reciprocidade. Por ser este anjo maravilhoso em minha vida.

A minha preciosa filha Natália, luz que torna minha vida mais repleta de alegrias e amor. Bênção infindável a nós concedida. Minhas razões de viver. Agradeço constantemente por suas presenças tão abundantes em minha vida.

Ao meu estimado pai, Luiz Carlos e minha saudosa mãe Heloiza Helena (*in memoriam*) a qual partiu durante esta caminhada. Voces me trouxeram à vida, zelaram por ela e a regaram com amor incondicional. Eternamente agradecido pela referência.

A minha sogra Jacira. Mesmo na sua avançada idade sempre nos amparou, com sua disponibilidade e vigor, nos muitos momentos solicitados em auxiliar com nossa filha.

Ao Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, pela contribuição nesta importante etapa de formação acadêmica.

Ao Instituto Federal Catarinense, concedendo-me afastamento integral ao Doutorado.

Aos colaboradores da indústria parceira, Lacticínios Tirol LTDA. A todos os envolvidos, em especial a Valter Antônio Brandalise – Diretor de Política Leiteira e Expansão -, Fernando Schoeninger – Gerente de Política Leiteira -, Erick Maia – Coordenador do Projeto Mais Leite Saudável -, Gerson Ivanir Schranck – Engenheiro Agrônomo da Equipe de Fomento -, e, também à equipe do laboratório interno de qualidade do leite, sem distinção. Pelo apoio ímpar, confiança e suporte ofertados. Por terem acreditado na essência, desde o projeto de pesquisa até o findar deste estudo científico.

Aos produtores de leite, que muito educadamente nos receberam em seus estabelecimentos rurais. Pela atenção disponibilizada, por autorizar, validar e por serem decisivos à realização desta pesquisa.

A família Thaler, pela cordial acolhida nos muitos pousos em seu harmonioso lar, no município de Treze Tílias.

Aos colegas de pós graduação, pelo convívio saudável e trabalho em equipe.



Aos membros das bancas, que muito me honraram, em aceitar o convite e, enriqueceram este estudo, com suas preciosas considerações. Por comporem tão gentilmente e profissionalmente as bancas de prova de qualificação e defesa desta tese.

E, principalmente, ao nosso criador. **DEUS PAI**, por me conceder uma maravilhosa família, pela proteção, força e amparo. Por nunca ter me abandonado, iluminando meus passos. Pela boa saúde estabelecida em mais uma etapa marcante de evolução de minha vida.

Um sincero agradecimento aos que comigo estiveram nesta jornada. Cada um foi fundamental, na realização deste objetivo pessoal e profissional. Nada se constrói sozinho.

**MUITO OBRIGADO A TODOS!**





*À memória de minha amada MÃE.  
Você me encaminhou em trilhar os  
percursos da vida com integridade  
e honradez. Seus valores me  
nortearão até onde minha lucidez  
alcance.*

*HELOIZA HELENA CÓRDOVA  
ARRUDA, à você DEDICO.*



*“Aprender é única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende”.*

*LEONARDO DA VINCI*



## RESUMO

No Brasil estão normatizados limites de 14 a 18º dornic (ºD) para a acidez titulável (AT) e o mínimo de 8,4% para o componente extrato seco desengordurado (ESD) do leite. Estes indicadores de qualidade físico-química e de composição do leite têm gerado situações de não conformidade, devido aos seus valores abaixo da legislação. Visando caracterizar estas inconformidades, identificar as variáveis relacionadas às mesmas, foram realizadas pesquisas resultando em três publicações científicas, duas sobre baixa AT e uma sobre baixo teor de ESD no leite. No primeiro trabalho analisaram-se dados da variável AT de seis experimentos, totalizando 820 amostras de leite de vacas individuais, além de, outros cinco experimentos investigando amostras de leite conjunto de 1.689 estabelecimentos rurais. Para análises estatísticas em todos os estudos sobre a variável AT, a mesma foi caracterizada em duas classes: baixa AT quando  $<14^{\circ}\text{D}$  e AT normal quando  $\geq14^{\circ}\text{D}$ . Os dados foram avaliados por análise de agrupamento multivariada. Constatou-se baixa AT em 6% das amostras de leite individual de vacas e em 4% das amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais. Nos dois estudos observou-se relação da baixa AT com elevada contagem de células somáticas (CCS), baixa concentração de lactose e nenhuma relação com alterações nos demais componentes do leite. Amostras de leite individual de vacas com baixa AT também estão relacionadas com menor teor de nitrogênio ureico no leite (NUL), e com leite produzido por vacas com maior ordem de parto. Em um segundo trabalho objetivou-se avaliar a prevalência da baixa AT em amostras de leite de plataforma de indústria, suas relações com as condições climáticas e indicadores de qualidade do leite, além de comparar amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais e de leite individual de vacas com baixa AT com amostras de AT normal. A pesquisa foi desenvolvida em duas etapas. No primeiro estudo realizou-se levantamento histórico temporal da baixa AT ao longo dos anos em compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte de um laticínio no período de 2014 a 2017, relacionando os achados com dados meteorológicos do período. Os dados foram analisados por regressão logística com distribuição binomial e análise fatorial multivariada. No segundo estudo, avaliou-se amostras de leite conjunto, dados zootécnicos, CCS, contagem padrão em placas (CPP) e parâmetros físico-químicos de 29 estabelecimentos rurais e de 157 amostras de leite de vacas individuais, excetuando-se as análises de CPP nas amostras de vacas. Os dados foram submetidos a análises de variância, transformação logarítmica, teste de qui-quadrado e análise fatorial multivariada. Das 166.488 amostras do primeiro estudo, 528 apresentaram AT  $<14^{\circ}\text{D}$ , associada a períodos com elevado Índice de Temperatura e Umidade, sendo caracterizado como fenômeno sazonal. Das 157 amostras do segundo estudo, 111 apresentaram AT  $<14^{\circ}\text{D}$ , sendo relacionado com crioscopia maior, menor teor de lactose (leite individual e leite conjunto), estágio lactacional maior, maior CCS, maior positividade para cloreto (leite de vaca individual). Caracterizou-se também, maior frequência de amostras com baixa AT em estabelecimentos rurais menos tecnificados em manejo alimentar, sobretudo aqueles com baixo NUL. No terceiro trabalho objetivou-se avaliar os efeitos estacionais, volume de leite comercializado pelos produtores, CCS e da CPP sobre o teor de ESD em amostras de leite de estabelecimentos rurais, além de analisar estas variáveis entre si e suas relações com os teores de proteína e lactose. Contemplaram-se 106.470 observações de análises mensais de leite produzido e comercializado de estabelecimentos rurais para quatro laticínios situados nos três Estados do Sul do Brasil, amostradas em 2015, das quais 25,6% estavam abaixo do normatizado. Os dados foram testados por análises univariadas e multivariadas. Visando avaliar as relações entre o volume de leite comercializado, CCS e CPP sobre o ESD no período, estas variáveis foram estratificadas em quintis. Os dados foram



submetidos às análises de variância, canônica e de agrupamento. Revelou-se variação sazonal, com menores teores de ESD no outono e verão. Quanto ao volume de leite comercializado observou-se variação sazonal em todos os quintis, com teores mais baixos de ESD nas amostras de pequenos estabelecimentos rurais ao longo do ano. Leite com elevada CPP e, especialmente alta CCS, apresentam menor teor de ESD durante o ano. A sazonalidade afetou o teor de ESD em amostras do leite, com contribuição importante do volume de produção, da CCS e da CPP.

**Palavras-Chave:** Baixa acidez titulável. Extrato seco desengordurado. Índice de temperatura e umidade. Leite hipoácido. Não conformidades do leite.



## ABSTRACT

In Brazil are standardized limits of 14 to 18° Dornic (°D) for titratable acidity (TA) and a minimum of 8.4% for the dry extract defatted (DED) component of milk. These indicators of physicochemical quality and milk composition have been generating non-compliance situations due to their values below the legislation. In order to characterize these nonconformities and to identify the variables related to them, researches were conducted resulting in three scientific publications, two about low TA and one about low DED content in milk. In the first search, data from the TA variable of six experiments were analyzed totaling 820 milk samples from individual cows besides that five other experiments investigating samples of a milk set from 1.689 rural establishments. For statistical analysis in all studies about the TA variable, it was characterized in two classes: low TA when  $<14^{\circ}\text{D}$  and normal TA when  $\geq14^{\circ}\text{D}$ . The data were evaluated by analysis of multivariate grouping. It was observed low TA in 6% of milk samples from individual cows and in 4% of milk set samples from rural establishments. In both studies, it was observed a relation of the low TA with high somatic cell count (SCC), low lactose concentration and no relation with changes in other components of the milk. Individual milk samples from cows with low AT are also related to lower levels of ureic nitrogen in milk (UNM) and milk produced by cows with a higher calving order. In a second search, the objective was to evaluate the prevalence of low TA in milk samples from the industry platform its relations with climatic conditions and milk quality indicators as well as comparing milk set samples from rural establishments and milk samples from individual cows, with low and normal TA samples. In the first study, it was held a temporal historical survey of the low TA over the years in compartments of isothermal tank-trucks of first transport of a dairy during the period from 2014 to 2017, relating the results in meteorological data of the period. We analyzed the data by logistic regression with binomial distribution and multivariate factor analysis. In the second study, milk set samples, zootechnical data, SCC, standard plaque counts (SPC) and physicochemical parameters were evaluated from 29 rural establishments and 157 milk samples from individual cows, with the exception of SPC analyzes in cows samples. The data were submitted to analysis of variance, logarithmic transformation, chi-square test and multivariate factor analysis. Of the 166.488 samples from the first study 528 presented TA  $<14^{\circ}\text{D}$ , associated to periods with high temperature and humidity index, being characterized as a seasonal phenomenon. Of the 157 samples from the second study 111 presented TA  $<14^{\circ}\text{D}$ , being related to higher cryoscopy, lower lactose content (individual milk and milk set), higher lactational stage, higher SCC, higher positivity for chlorides (individual cow's milk). It was also observed a higher frequency of samples with low TA in rural establishments less technified in food management, especially those with low UNM. The third search objective was to evaluate the seasonal effects, the volume of milk commercialized by the producers, SCC and SPC on the DED content in samples of milk from rural establishments, besides analyzing these variables among themselves and their relations with the protein and lactose contents. It contemplated 106.470 observations of monthly milk analyzes produced and marketed in rural establishments for four dairy industry located in the three southern states of Brazil, sampled in 2015 of which 25.6% were below standardized. The data were tested by univariate and multivariate analyzes. Aiming to evaluate the relationships between the volume of milk marketed the SCC and the SPC on the DED in the period, these variables were stratified into quintiles. The data were submitted to variance analysis, canonical and cluster. Seasonal variation was revealed with lower levels of DED in the autumn and summer. Regarding the volume of milk marketed, seasonal variation was observed in all quintiles with lower levels of



DED in samples of small rural establishments during the year. Milk with high SPC and, especially high SCC, has a lower DED content during the year. The seasonality affected the DED content in milk samples with a significant contribution of the volume of production, of SCC and CPP.

**Keywords:** Low titratable acidity. Dry extract defatted. Temperature and humidity index. Milk hypoacid. Non-conformities of milk.



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

Figura 1 – Análise canônica demonstrando as distâncias euclidianas, entre e dentro dos grupos, formados pelas variáveis que representam as classes de acidez titulável do leite de amostras de leite individual de vacas. Grupo 1 (■), grupo 2 (▲) e grupo 3 (◆).....89

### CAPÍTULO III

Figura 1 – Mapa da microrregião de Joaçaba, a qual está situada na mesorregião Meio Oeste do Estado de Santa Catarina, com destaque aos municípios onde situam-se os estabelecimentos rurais pesquisados.....114

Figura 2 – Procedimentos de coletas de amostras de leite individual de vacas e de leite conjunto (B), de dados zootécnicos (A) dos estabelecimentos rurais testemunhos e dos identificados com leite de baixa acidez titulável.....117

Figura 3 – Coleta e acondicionamento de amostras de leite (A), (B), registro dos dados zootécnicos (C), armazenamento das amostras durante a logística em refrigerador comercial (D) e frascos utilizados na amostragem de leite de vacas individuais e de leite conjunto dos estabelecimentos rurais (E).....118

Figura 4 – Procedimentos metodológicos e analíticos empregados nos testes do leite no laboratório interno de qualidade do laticínio parceiro. Teste de estabilidade da caseína na presença de álcool etílico (A), teste do potencial hidrogenionico (pH) do leite (B), teste da titulação da acidez do leite (C), índice crioscópico (D) e prova qualitativa para cloreto (E).....120

Figura 5 – Mapa do Estado de Santa Catarina, destacando a mesorregião de localização dos estabelecimentos rurais pesquisados.....122

Figura 6 – Percentagem diária de compartimentos isotérmicos de caminhões tanque com acidez titulável do leite <14ºD (A) e percentagem mensal com acidez titulável do leite <14ºD (B) (N = 166.448).....123

Figura 7 - Índice de Temperatura e Umidade (ITU) máximo no período de estudo, destacando os dois períodos de maior prevalência de baixa acidez titulável .....124



## CAPÍTULO IV

Figura 1 – Média dos quadrados mínimos para extrato seco desengordurado (ESD), % de não conformidade para ESD (A), lactose e proteína (B), volume de leite comercializado por produtor (C), contagem de células somáticas, contagem padrão em placas (D) no ano. .... 155

Figura 2 – Média dos quadrados mínimos para o teor de extrato seco desengordurado (ESD) em função do volume do ano mensal de leite comercializado desde os menores (1º quintil) até os maiores produtores (5º quintil), conforme os meses. .... 158

Figura 3 – Média dos quadrados mínimos para teor extrato seco desengordurado (ESD) em função do nível de contagem de células somáticas (CCS), desde os menores (1º quintil) até os maiores valores de CCS (5º quintil), conforme os meses do ano. 159

Figura 4 – Média dos quadrados mínimos para o teor de extrato seco desengordurado (ESD) em função do nível de contagem padrão em placas (CPP), desde os menores (1º quintil) até os maiores valores de CPP (5º quintil), conforme os meses do ano. 160



## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

Tabela 1 – Estatística descritiva da base de dados dos experimentos com dados zootécnicos, análises do teste de estabilidade do leite ao teste do álcool, acidez titulável, classes de acidez titulável, da produção, composição, células somáticas, do nitrogênio ureico e extrato seco desengordurado do leite de amostras de leite individual de vacas. ....	88
Tabela 2 – Análise STEPDISC das variáveis determinantes para a diferenciação dos grupos e seus respectivos parâmetros estatísticos para as variáveis que representam as classes de acidez titulável do leite de amostras de leite individual de vacas.....	90
Tabela 3 – Agrupamentos formados pelas variáveis referentes as classes de acidez titulável de amostras de leite individual de vacas.....	91
Tabela 4 – Estatística descritiva da base de dados dos experimentos, com dados da região pesquisada e análises do teste de estabilidade do leite ao teste do álcool, da acidez titulável, das classes da acidez titulável, composição, contagem de células somáticas e da contagem padrão em placas de amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais. ....	95
Tabela 5 – Análise STEPDISC das variáveis determinantes para a diferenciação dos grupos e seus respectivos parâmetros estatísticos para as variáveis que representam as classes de acidez titulável do leite de amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais. ....	96
Tabela 6 – Agrupamentos formados pelas variáveis referentes as classes de acidez titulável de amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais. ....	97



## CAPÍTULO III

Tabela 1 – Cargas fatoriais e percentual da variância explicada pelos fatores em análise fatorial relacionando a acidez titulável com alguns indicadores de qualidade do leite.....	127
Tabela 2 – Médias $\pm$ erros-padrão da média (EPM) e valores de P dos indicadores de qualidade do leite em função da acidez titulável das amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais.....	128
Tabela 3 – Análise fatorial entre acidez titulável, indicadores da composição, nitrogênio ureico no leite, índice crioscópico, contagem padrão em placas e contagem de células somáticas das amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais ..	130
Tabela 4 – Médias $\pm$ erros-padrão da média (EPM) e valor de P dos indicadores de estrutura dos estabelecimentos rurais, dados zootécnicos e fornecimento de alimentos concentrados.....	132
Tabela 5 – Número e percentagem de estabelecimentos rurais que adotam diferentes técnicas de manejo e valor de P.....	132
Tabela 6 – Médias $\pm$ erros-padrão da média (EPM) e valor de P dos indicadores de qualidade do leite em função da acidez titulável das amostras de leite individual de vacas.....	133
Tabela 7 – Análise fatorial entre acidez titulável, indicadores da composição, nitrogênio ureico no leite, índice crioscópico, contagem de células somáticas e dias em lactação das amostras de leite individual das vacas.....	136

## CAPÍTULO IV

Tabela 1 – Valores médios e desvios-padrão das variáveis analisadas.....	153
Tabela 2 – Percentuais médios de proteína, lactose e extrato seco desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS) e contagem padrão em placas (CPP), desde os menores (1º quintil) até os maiores produtores (5º quintil), em função do volume mensal comercializado, CCS e CPP.....	157



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMMOC	Associação dos Municípios do Meio Oeste Catarinense
AT	Acidez titulável
APHA	American Public Health Association
CAV	Centro de Ciencias Agroveterinárias
CBI	Contagem bacteriana individual
CCS	Contagem de Células Somáticas
CEPDA	Centro Estadual de Pesquisas e Diagnóstico em Alimentos
CO <sub>2</sub>	Gás carbonico
CPP	Contagem Padrão em Placas
DRINC	DAIRY RESEARCH AND INFORMATION CENTER
ECS	Escore de Células Somáticas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ESD	Extrato Seco Desengordurado
EST	Extrato Seco Total
FAO	FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS
FTIR	Fourier Transform Infrared
GL	Gay Lussac
H <sup>+</sup>	íon de hidrogênio
IDF	International Dairy Federation
LINA	Leite instável não ácido
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NaOH	Hidróxido de sódio
°D	Graus Dornic
pH	Potencial Hidrogeniônico
RBQL	Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite
SIF	Serviço de Inspeção Federal
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do SUL
UNISUL	Universidade do Sul de Santa Catarina



## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>39</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>45</b>
2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DA PRODUÇÃO LEITEIRA .....	45
2.2 ACIDEZ TITULÁVEL NO LEITE .....	46
2.2.1 Fermentação da Lactose em Ácido Lático .....	46
2.2.2 O Ácido Lático no Leite .....	47
2.2.3 Parâmetros de Acidez Titulável no Leite .....	47
2.2.4 Parâmetros do Potencial Hidrogenionico (pH) no Leite .....	48
2.2.5 Determinação da Acidez Titulável no Leite Cru .....	48
2.2.6 Acidez Verdadeira e Acidez Natural no Leite .....	49
2.2.7 Fatores que Influenciam a Acidez no Leite .....	50
2.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE .....	52
2.3.1 Gordura .....	52
2.3.2 Proteína .....	53
2.3.3 Lactose .....	53
2.3.4 Extrato Seco Total .....	54
2.3.4.1 Fatores que influenciam a composição do extrato seco total no leite .....	55
2.3.5 Extrato Seco Desengordurado .....	56
2.3.5.1 Fatores que influenciam a composição do extrato seco desengordurado no leite .....	56
<b>3 HIPÓTESES E OBJETIVOS .....</b>	<b>59</b>
3.1 HIPÓTESES .....	59
3.2 OBJETIVOS .....	59
3.2.1 Objetivo Geral .....	59
3.2.2 Objetivos Específicos .....	59
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS – GERAL .....</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>65</b>
<b>CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO – VARIÁVEIS RELACIONADAS À BAIXA ACIDEZ TITULÁVEL EM LEITE DE VACAS INDIVIDUAIS E EM LEITE CONJUNTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS: ANÁLISE DE GRUPOS DE EXPERIMENTOS .....</b>	<b>77</b>

1	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	80
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	83
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	87
4	<b>CONCLUSÕES .....</b>	98
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	98
	<b>CAPÍTULO III – ARTIGO CIENTÍFICO – CARACTERIZAÇÃO DA BAIXA ACIDEZ TITULÁVEL DO LEITE EM PLATAFORMA DE INDÚSTRIA, DE VACAS INDIVIDUAIS E EM LEITE CONJUNTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS.....</b>	107
1	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	110
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	113
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	123
4	<b>CONCLUSÕES .....</b>	137
	<b>REFERENCIAS .....</b>	137
	<b>CAPÍTULO IV – ARTIGO CIENTÍFICO – VARIÁVEIS RELACIONADAS AO TEOR DE EXTRATO SECO DESENGORDURADO EM AMOSTRAS DE LEITE DE TANQUES DE RESFRIAMENTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS.....</b>	145
1	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	148
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	150
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	152
4	<b>CONCLUSÕES .....</b>	162
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	163
	<b>APENDICES.....</b>	167
	APÊNDICE A – Questionário .....	169
	<b>ANEXOS .....</b>	175
	ANEXO A – Declaração de Ciência e Concordância das Instituições Envolvidas ..	177
	ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	181

## APRESENTAÇÃO

O comércio mundial de produtos lácteos vem registrando taxas de crescimento consecutivas. A produção total mundial de leite fluido foi de 812,1 e de 819,3 milhões de toneladas, nos anos de 2015 e 2016, respectivamente. No ano de 2017, ampliou-se em cerca de 1,0 a 1,4%, equivalendo em torno de 71,8 milhões de toneladas de incremento, estimando-se, assim, a produção aproximada de 831 milhões de toneladas de leite. Segundo a distribuição, percebe-se a produção se expandindo nos continentes da Ásia e das Américas, estagnada nos continentes Europeus e da África e declinando na Oceania (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2017).

Como visto, a produção de leite é uma atividade significativa para as regiões onde é desenvolvida, contribuindo para a minimização do desemprego e da exclusão social. Além disso, toda a complexa movimentação de recursos envolvidos nas atividades da cadeia produtiva do leite participa e contribui para o desenvolvimento socioeconômico destas regiões. É um setor agroindustrial que, pela ótica do progresso técnico e estruturação industrial, comprehende a força de diferentes segmentos e atividades, processando um único insumo básico, gerando ampla variedade de produtos.

Para a cadeia láctea mundial é de grande relevância identificar os sistemas de manejo e produção de rebanhos leiteiros que favoreçam a obtenção de um leite com maior qualidade (BODENMÜLLER FILHO et al., 2010). O Brasil como um dos maiores produtores e exportadores de proteína animal, tem grande responsabilidade no fornecimento de alimentos de qualidade, para suprir a demanda não somente da população brasileira, como também, mundial, sendo o quarto maior produtor de leite do mundo (EMBRAPA, 2013).

Com o maior acesso à informação sobre o papel dos alimentos na saúde, o conceito de qualidade tem se tornado mais abrangente (TRIPATHI, 2014). Porém, o leite ainda é produzido com expressiva heterogeneidade de sistemas de produção, em todo o território brasileiro, com baixo número de produtores especializados e elevado número de produtores com intermediária ou pouca especialização, e, por que não descrever alguns sistemas como extrativista de produção (VARGAS et al., 2015).

Ao longo dos últimos anos, a atividade leiteira vem tendo cada vez mais importância econômica e social para o setor agrícola de Santa Catarina, sendo responsável pelo movimento econômico de grande parte dos municípios do Estado. Este processo tem especial relevância na Região Oeste do Estado, a região continua sendo aquela em que as taxas de

crescimento da produção são as mais significativas, o que faz com que a cada ano cresça a sua participação em relação à produção total do Estado.

A manutenção das características do leite, assim como a sua integridade e o seu valor nutricional, são aspectos de preocupação tanto para a indústria quanto para os órgãos reguladores e de pesquisas realizadas no Brasil. Órgãos oficiais devem realizar periodicamente análises laboratoriais de amostras da produção, para averiguação de conformidade a esses padrões. Ainda, a comunidade científica deve também contribuir nessa verificação, realizando estudos paralelos para comprovação dos resultados, além de pesquisas visando alternativas para melhoria e desenvolvimento da atividade leiteira.

De acordo com Chapaval e Piekarski (2000), a produção e o processamento do leite de alta qualidade é uma situação conhecida por “win-win-win”, com os três setores ganhando: os consumidores por terem acesso a um produto mais nutritivo e seguro; os processadores, pois seus produtos serão de maior qualidade, o que resulta em aumento de consumo e lucratividade; e os produtores, por terem aumento na demanda por seus produtos, resultando em preços mais altos e maiores lucros.

A relevância desse estudo está baseada em alguns princípios: 1) inserção da instituição de ensino e pesquisa na região destaque na bacia leiteira da mesorregião Oeste catarinense; 2) ampliação do segmento lácteo no agronegócio nacional e, regional; 3) maiores exigências legais de qualidade da própria atividade e do mercado consumidor; 4) benefícios voltados à saúde pública enquanto produto leite alimento; 5) compromisso social auxiliando na permanência do produtor na atividade; e 6) redução na prevalência de não conformidades nas indústrias do segmento lácteo, em particular quando se utiliza a titulação de 14°D ou o baixo teor de extrato seco desengordurado (ESD) como fatores delimitadores de qualidade.

Assim, essa pesquisa é coerente com os objetivos das legislações que buscam a melhoria contínua da qualidade dos produtos lácteos, bem como da ampla gama de derivados processados e consumidos no Brasil. Espera-se que o estudo forneça dados mais recentes sobre a matéria-prima leite dos estabelecimentos rurais avaliados, além de indicar a direção a ser seguida na resolução dos possíveis problemas associados, determinantes, ou não, nas variações da composição do ESD, assim como, na titulação baixa da acidez do leite, das suas causas e relações, permitindo a adoção de estratégias e procedimentos para correções, bem como orientando futuros trabalhos de pesquisa na área.

Quanto à estruturação deste estudo, o mesmo abrange uma revisão teórica sobre qualidade do leite, com ênfase nos atributos baixa acidez titulável (AT) e baixo teor de ESD, descreve a metodologia utilizada, bem como os resultados obtidos e conclusões. Partindo-se

desse pressuposto, procurou-se organizar este estudo através de uma sequência lógica, com a grande divisão, em dois temas principais, subdivididos em quatro capítulos. Para tanto, os capítulos são tratados e desencadeados a partir de uma visão de aproximação ao detalhamento das duas principais variáveis pesquisadas, a baixa AT e os baixos teores de ESD em amostras de leite de compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte, em amostras individuais de vacas e de leite conjunto de estabelecimentos rurais.

O primeiro capítulo destaca a justificativa do estudo, apresenta os tópicos introdução, revisão bibliográfica, hipóteses, objetivos geral e específicos, material e metodologia utilizados no desenvolvimento da pesquisa. Os demais capítulos tratam de artigos científicos, sendo o último capítulo já confeccionado conforme formatação estipulada por determinado periódico, ao qual já fora submetido à avaliação para publicação.

No segundo capítulo, devido a certa identidade da temática em estudo, foram agrupadas as pesquisas de análises de grupos de experimentos sobre baixa AT, versando sobre amostras de leite individuais de vaca e amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais. Ao se agrupar os conhecimentos das etapas 1 e 2 do projeto de pesquisa procurou-se evidenciar a escassez de estudos relacionadas às condições de ocorrência de leite com baixa AT, dos fatores condicionantes e das suas relações com as alterações na composição e características originais do leite de estabelecimentos rurais.

No terceiro capítulo, devido também a similaridade aos objetivos propostos, foram estudadas isoladamente as etapas 3 e 4 do projeto de pesquisa, sendo posteriormente agrupadas em um único trabalho. O intuito foi o de promover um levantamento histórico temporal, da prevalência da baixa AT em diferentes épocas do ano, e as possíveis relações desta não conformidade com as análises físico-químicas, de CCS e de CPP do leite, em amostras de leite de compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte, em amostras de leite individual de vacas e também em amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais, objetivando cruzar estes dados com as informações zootécnicas oriundas do questionário aplicado aos produtores dos 29 estabelecimentos rurais.

No transcorrer da pesquisa, evidenciou-se também a ocorrência de amostras de leite com teores de ESD abaixo do normatizado. Desta forma, no quarto capítulo, ou segmento de fecho, discorremos sobre os achados científicos sendo avaliados os efeitos da época do ano, do volume de leite comercializado pelos produtores, da CCS e da CPP, e seus efeitos sobre o teor de ESD em amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais, contemplando um banco de dados de 106.470 análises de leite de quatro laticínios situados e distribuídos nos três Estados da região Sul do País, sendo amostradas no ano de 2015.



## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**



## 1 INTRODUÇÃO

O leite é um produto relevante para a nutrição humana, sendo utilizado como forma de alimentação em todos os continentes. Na forma fluída ou através de seus derivados, constitui-se como alimento bastante acessível, sendo reconhecido como uma importante fonte de nutrientes para os seres humanos (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2017).

O agronegócio do leite ocupa destacado espaço na economia mundial, sendo um dos sistemas agro-industriais mais expressivos do Brasil, sobretudo devido à sua importância social (GUIMARÃES; LANGONI, 2009). Conforme estudos da Embrapa Gado de Leite - MG, no período de 2000 a 2015 a produção de leite no Brasil cresceu 72,3%, evidenciando-se assim, a importância do segmento lácteo no agronegócio brasileiro, empregando mais de 2 milhões de pessoas (ZOCCAL, 2017).

A cadeia do segmento de produção e processamento de leite vive em constantes mudanças proporcionadas pela geração de mais amplos conhecimentos e também da introdução de novas tecnologias no setor. No passado o leite tinha seus preços ao produtor, indústria e consumidor, determinados pelo governo. Diante da implementação de documentos normativos e Decretos governamentais, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), são alterados e, passam a vigorar novos e mais rigorosos padrões de qualidade para o leite cru, havendo, a partir daí, maior necessidade em se cumprir os padrões mínimos, de implantação e manutenção, dos atributos de qualidade ao recebimento do leite.

O conhecimento da composição do leite é fundamental na determinação de sua qualidade, pois esclarece propriedades organolépticas e industriais (NORO et al., 2006; McCARTHY; SINGH, 2009). Neste sentido, a composição do leite está atrelada como um dos fatores determinantes às propriedades tecnológicas de processamento de queijo, manteiga, iogurte, entre outros diversos produtos derivados lácteos (GLANTZ et al., 2009).

Alguns aspectos químicos são rotineiramente empregados pelas indústrias de laticínios, visando avaliar a qualidade do leite produzido e comercializado pelos produtores. Esses critérios apresentam grande valia no monitoramento do rendimento industrial, assim como a qualidade do produto derivado acabado. A compreensão dessas propriedades é importante na operação tecnológica de processamento de leite, na concepção de métodos modernos de análise de leite, e na elucidação de reações químicas que ocorrem no leite (McCARTHY; SINGH, 2009).

Dentre estes critérios destaca-se a avaliação da acidez titulável (AT) do leite cru. A avaliação da acidez do leite, por meio da titulação em graus dornic ( $^{\circ}\text{D}$ ) vem sendo aplicada como um dos testes de aceitação ou não do leite por parte das indústrias captadoras e processadoras de leite, sendo determinada na indústria de laticínios principalmente por verificar a frescura do leite e controlar o fabrico de produtos lácteos cultivados (fermentados) (McCARTHY; SINGH, 2009).

Atualmente, no Brasil estão normatizados os limites legais de 14 a 18 $^{\circ}\text{D}$  para a AT na avaliação de leite cru, conforme a IN62 e o Decreto Nº 9.013/2017, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017). Estes limites equivalem de 0,14 a 0,18g/100ml em ácido láctico para AT, sendo que 1 $^{\circ}\text{D}$  corresponde a 0,001g de ácido láctico contido em 10ml de leite, a 0,01% de ácido láctico (g ácido láctico/100g leite) (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007).

A acidez do leite é medida pelo método da AT, cujo fundamento consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando, como indicador, a fenolftaleína (BRASIL, 2006). A avaliação da acidez do leite, por meio da titulação através do  $^{\circ}\text{D}$ , vem sendo amplamente utilizada nos laticínios devido à facilidade e rapidez na sua execução (DONATELE; VIEIRA; FOLLY, 2003; SILVA et al., 2008; McCARTHY; SINGH, 2009), sendo aplicada como teste de plataforma para decidir sobre a aceitação ou não do produto.

Normalmente, o maior objetivo da avaliação da AT é o descarte de leite com elevada acidez, pois elevada AT normalmente está associada à alta concentração de ácido láctico que, por sua vez, resulta de elevada contaminação bacteriana do leite, indicada pela alta contagem padrão em placas (CPP), a qual que promove a metabolização de lactose a ácidos, dentre estes o láctico é o principal (HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; CALDEIRA et al., 2010).

A acidez no leite cru não deve ser confundida com a acidez que se forma no leite, através do crescimento de bactérias (acidez verdadeira) (BRITO et al., 2012). A lactose, carboidrato do leite, ao ser fermentada por ação de microrganismos forma ácidos orgânicos, em especial o ácido láctico, resultando na chamada acidez adquirida. A acidez adquirida em conjunto com a acidez natural forma a acidez verdadeira do leite (MAPA/SDA/CGAL, 2013). No entanto, a AT por si só, não estipula o perfil microbiológico do leite (PERES, 2001). A acidez inicial de leites de vacas individuais varia no intervalo de 8 a 25 $^{\circ}\text{D}$ . Já a AT do leite conjunto normalmente fica no intervalo de 14 a 16 $^{\circ}\text{D}$  (McCARTHY; SINGH, 2009). No entanto, segundo Walstra, Wouters e Geurts (1999), a maioria das amostras de leite cru apresentam AT variando na escala de 14 a 21 $^{\circ}\text{D}$ , com média de 17 $^{\circ}\text{D}$ .

No entanto, é necessário certo critério no julgamento da qualidade do leite, somente baseado neste ensaio (BRASIL, 2002; BRASIL, 2006). Situações relacionadas à baixa AT do leite cru não vem sendo amplamente discutidas, particularmente quando se utiliza 14°D como delimitador de qualidade. Neste sentido, a AT é um parâmetro que pode compor o diagnóstico de outras alterações no leite cru. Porém, se utilizado de maneira equivocada e ou inadequadamente, pode-se estar penalizando injustamente os fornecedores da matéria-prima, uma vez que a AT pode ser influenciada negativamente por fatores não higiênicos variados.

Desta forma, fazem-se necessários amplos critérios no julgamento da qualidade de um leite unicamente baseado no ensaio de titulação de AT na planta industrial, visto que, ainda existe carência de investigações científicas, não estando claramente pesquisadas as correlações dos diversos fatores determinantes, bem como das condições envolvidas que podem exercer efeitos sobre a AT do leite, dos fatores condicionantes e das suas relações com as alterações na composição e nas características físico-químicas no leite, em especial dos trabalhos efetivados em bacias leiteiras específicas.

O leite é constituído por um conjunto de substâncias sintetizadas nas células especializadas da própria glândula mamária e, de outros compostos oriundos das trocas da circulação sanguínea para os alvéolos glandulares (TRONCO, 2010), é uma dispersão coloidal complexa contendo glóbulos de gordura, micelas de caseína e proteínas de soro de leite em uma solução aquosa de lactose, minerais e alguns outros componentes menores (McCARTHY; SINGH, 2009). Na composição do leite, o extrato seco desengordurado (ESD) compreende todos os seus componentes, menos a gordura (BRASIL, 1981; PICININ et al., 2001; BRASIL 2011; BRASIL 2017), devendo corresponder no mínimo a 8,4% (BRASIL 2011; BRASIL 2017).

A qualidade tem papel fundamental para a agroindústria do segmento lácteo. A produção de derivados depende da quantidade de constituintes presentes no leite cru, como teores de gordura e extrato seco desengordurado (ESD). Além disto, o teor de ESD tem preocupado as indústrias de laticínios, visto que o teor abaixo de 8,4%, valor mínimo estabelecido pelas normas de qualidade do leite (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017), tem se evidenciado como importante variável de não conformidade, especialmente nas plataformas de leite nos postos de resfriamento e indústria de laticínios.

Deste modo, compreender as principais variáveis relacionados à concentração de ESD e dos seus principais constituintes, proteína e lactose, pode auxiliar a cadeia produtiva no atendimento às normas brasileiras de qualidade do leite.

Com base nisso, este estudo procura estabelecer as principais variáveis que podem interferir na baixa AT do leite cru e, também no baixo teor de ESD, suas implicações e relações destas não conformidades em amostras de leite cru de compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte, em amostras de leite individuais de vacas e amostras de leite conjunto de rebanhos de estabelecimentos rurais em Santa Catarina.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DA PRODUÇÃO LEITEIRA

O Brasil vem apresentando constante crescimento na produção de leite. A importância que a atividade adquiriu no país é incontestável, tanto no desempenho econômico quanto na geração de empregos permanentes (ZOCCAL et al., 2008).

Na escala de produção mundial foram produzidos aproximadamente 830,5 bilhões de quilos de leite fluido no ano de 2017. Segundo os principais produtores de leite fluido, o Brasil participou no ano de 2017, com 4,2% da produção mundial, algo em torno de 34,5 bilhões de quilos produzidos (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2017). Classificam-se os Estados Unidos como maior produtor, seguido da Índia e China, segundo e terceiro colocados, respectivamente (ZOCCAL, 2017). O Brasil ocupa a quarta posição no *ranking* dos países produtores de leite (EMBRAPA, 2013; IBGE, 2017) sendo que no 3º trimestre de 2017 destacou-se pela aquisição de 6,162 bilhões de litros de leite cru dos estabelecimentos captadores sob inspeção sanitária (federal, estadual ou municipal), sendo este volume 5,4% superior ao alcançado no mesmo trimestre do ano anterior (IBGE, 2017).

Em Santa Catarina, no 3º trimestre de 2017 foram industrializados (dados preliminares) cerca de 814,4 milhões de litros, representando crescimento de 17,8%, confrontando-se ao mesmo período no ano de 2016 (IBGE, 2017). No *ranking* das Unidades da Federação, Minas Gerais é o maior produtor de leite nacional, com 8,97 bilhões de litros, seguido pelo Paraná, com 14,1%, Rio Grande do Sul (13,7%) e Santa Catarina (9,3%), na quarta maior produção. A Região Sul do Brasil responde por 37,0% da produção nacional, mantendo a liderança, seguida pela Região Sudeste com 34,3% da produção, Centro-Oeste (11,8%), Nordeste (11,2%) e Norte (5,6%) (IBGE, 2016).

Conforme a Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca, a produção de leite no Estado catarinense foi expandida em 82% num período de dez anos. No mesmo período, em nível nacional, a produção aumentou em 32%. De 2006 a 2016, Santa Catarina saltou de 1,7 bilhões para 3,1 bilhões de litros produzidos (SANTA CATARINA, 2018). O segmento leite é a atividade agropecuária que mais cresce em Santa Catarina, envolvendo em torno de 45 mil produtores, em quase a totalidade dos 295 municípios que compõem o Estado. O leite é o terceiro produto no *ranking* de valor bruto da produção da agropecuária catarinense. O

faturamento do setor ultrapassou R\$3,5 bilhões em 2017, representando 13% da receita do agronegócio catarinense (SANTA CATARINA, 2018).

Considerando as áreas geográficas de maior atividade leiteira no Brasil, o Estado catarinense é dividido em seis regiões. Dentre estas, a mesorregião Oeste abrange uma população aproximada de 1,1 milhões de habitantes e uma área de 24,3 mil km<sup>2</sup>, com 99 municípios. Segundo a Associação dos Municípios do Meio Oeste Catarinense (AMMOC), esta microrregião, pertencente a mesorregião Oeste catarinense, é composta por doze municípios, destacando-se como importante bacia leiteira do Estado (AMMOC, 2018). Segundo a Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca (SANTA CATARINA, 2018) a região Oeste responde na atualidade por mais de 75% do leite produzido no Estado de Santa Catarina.

## 2.2 ACIDEZ TITULÁVEL NO LEITE

### 2.2.1 Fermentação da Lactose em Ácido Lático

O leite é um excelente meio de cultura de microrganismos, os quais atuam como germes de fermentação, oxidando a lactose a ácido láctico. No leite, com desenvolvimento bacteriano a lactose é transformada em ácido láctico (VENTURINI ; SARCINELLI; SILVA, 2007) através da degradação aeróbica (TORMO; IZCO, 2004).

Os ácidos produzidos por bactérias no leite são principalmente ácido láctico e ácido acético (DRINC, 2015). Estruturalmente, o ácido láctico é um ácido orgânico com um ácido carboxílico (CH<sub>3</sub>-CHOH-COOH), com peso molecular de 90 (GEA, 2015). É um líquido incolor, viscoso, ligeiramente higroscópico, sem cheiro e de gosto azedo. Contém um átomo de carbono assimétrico, isto é, um átomo de carbono que possui quatro grupos distintos ligados a ele. Assim, o ácido láctico ocorre nas duas formas D (destrógiro) e L (levógiro), ou na mistura das formas D e L (racêmico), possui densidade de 1,206 g/ml e a forma racêmica funde a 18°C e as formas D e L fundem a 28°C (GEA, 2015).

Os microrganismos capazes de fermentar a lactose dispõem de sistema enzimático necessário à sua metabolização, como a enzima lactase (beta-D-galactosidase), responsável pela quebra da lactose em glicose e galactose. A glicose e a galactose são oxidadas a ácido láctico pelos microrganismos homofermentativos, pela via de Mayerhof-Embden. Os heterofermentativos, obrigatoriamente, as oxidam via pentose fosfato, enquanto os

microrganismos de fermentação facultativa utilizam qualquer uma dessas duas vias (WALSTRA, 1999).

### 2.2.2 O Ácido Lático no Leite

A presença de ácido lático em leite ácido foi descoberta pelo químico Carl Wilhelm Scheele, em 1782, e, em 1857, Pasteur demonstrou que a formação do ácido lático por fermentação envolvia microrganismos (FOSTER et al., 1997). As bactérias láticas produzem ácido lático a partir de carboidratos como a lactose. Incluem neste grupo os gêneros *Lactococcus* e *Lactobacillus*. Quanto à temperatura ideal de multiplicação as bactérias láticas são classificadas em mesofílicas (inativadas pela pasteurização) e termofílicas (WALSTRA et al., 2002). As bactérias do ácido lático são gram+, não formadoras de esporo, sem mobilidade, e algumas são catalase negativas. Os tipos homofermentativos produzem ácido lático a partir de açúcares, e pequenas quantidades de outros produtos. Deste grupo podemos citar os *Streptococcus* e os *Lactococcus*. As bactérias láticas heterofermentativas fermentam a glicose e formam CO<sub>2</sub>, álcool, ácido acético, e, ainda o ácido lático. Pertencem a este grupo os *Lactobacillus*, e os *Leuconostoc* (WEBB; JOHNSON; ALFRORD, 1974).

### 2.2.3 Parâmetros de Acidez Titulável no Leite

De acordo com Órdoñez et al. (2005) uma das características que determinam propriedades específicas do leite é a acidez. Conforme a legislação atual, considera-se como normal a acidez natural do leite cru entre 14 a 18ºD (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017).

Apesar do resultado da AT ser expresso em % em ácido lático, não é somente a sua presença que determina a acidez. Outros componentes acídicos do leite também interferem nesta característica como: citratos, fosfatos e proteínas (HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; MAPA/SDA/CGAL, 2013), caseína, proteínas do soro (DRINC, 2015) e dióxido de carbono (HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; DRINC, 2015). Evidencia-se assim a característica de que, quanto maior a concentração desses componentes no leite, maior sera o seu nível de AT. Portanto, em geral, o leite cru de uma vaca Jersey terá maior AT que o leite cru de uma vaca Holandesa, pois o leite Jersey geralmente apresenta maior teor natural de proteína (HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; McCARTHY; SINGH, 2009).

A característica AT é de fundamental importância para a determinação da qualidade do leite, e, em conjunto com a composição centesimal, a contagem de células somáticas

(CCS) e a contagem padrão em placas (CPP), descrevem as possibilidades de processamento da matéria prima (SILVA et al., 1997; FONSECA; SANTOS, 2000), além da densidade e crioscopia (WALSTRA; JENNESS, 1984).

#### **2.2.4 Parâmetros do Potencial Hidrogenionico (pH) no Leite**

O potencial hidrogeniônico (pH) é uma medida da atividade do íon de hidrogênio ( $H^+$ ) em soluções aquosas. A aferição mais exata do pH é obtida através de eletrometria, por meio de um medidor de pH (GEA, 2015).

O pH indica a intensidade da condição ácida. O verdadeiro ponto neutro é o pH 7,0. Valores de pH inferiores a 7,0 indicam reação ácida, e acima de 7,0 indicam reação alcalina (MAPA/SDA/CGAL, 2013).

Entre os pesquisadores tem-se a concordância de o leite cru apresentar reação ligeiramente ácida apresentando, entretanto, discordância quanto aos valores do pH. Estudos divulgam valores variando de 6,4 a 6,8 (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007), 6,6 a 6,8 (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 1999; TRONCO, 2010; BRITO et al., 2012), com média de 6,7 a 20°C (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 1999; BRITO et al., 2012), ou média de 6,6 a 25°C (BRITO et al., 2012).

O valor do pH é inversamente proporcional ao valor da AT. Quanto menor o pH, maior a AT e vice-versa (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 1999; MAPA/SDA/CGAL, 2013). Essencialmente, o pH é um parâmetro mais significativo para caracterizar a acidez do leite do que a AT, o pH informa a conformação das proteínas, a atividade das enzimas e a dissociação dos ácidos presentes no leite (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 1999).

#### **2.2.5 Determinação da Acidez Titulável no Leite Cru**

A determinação da acidez do leite é uma das medidas mais usadas no controle da matéria-prima pela indústria leiteira. O teste é usado para classificar o leite e também como guia para controle da manufatura de produtos derivados lácteos (BRITO et al., 2012). A acidez é à medida que avalia o equilíbrio ácido/base, sendo o leite um composto levemente ácido, a partir dos componentes citados anteriormente (ÓRDOÑEZ et al., 2005).

A metodologia do teste da AT não mede o número de bactérias presentes no leite, mensura sim, a concentração de compostos ácidos no leite (HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003). A prova da AT nada mais é do que uma medida do tamponamento do

leite até o pH correspondente ao ponto final da fenolftaleína (McCARTHY; SINGH, 2009). O fundamento consiste na titulação de determinado volume de leite com solução alcalina de concentração conhecida, utilizando um indicador (MAPA/SDA/CGAL, 2013). Na prova de titulação utiliza-se uma solução 0,1N de hidróxido de sódio (NaOH), a qual consiste em informar a quantia, ou o consumo de NaOH que foi necessário para mudar o valor de pH de  $6,6 \pm 0,1$  (pH ideal do leite cru) a um valor de pH na faixa de 8,2 a 8,4 (pH da fenolftaleína) (McCARTHY; SINGH, 2009; GEA, 2015).

No teste da AT, uma substância básica muito forte (isto é, alcalina), o NaOH é usado para neutralizar os compostos ácidos do leite. Uma substância indicadora (fenolftaleína) é usada para mostrar a quantidade do álcali que foi necessária para neutralizar o ácido do leite. O indicador permanece incolor quando misturado com uma substância ácida, mas adquire coloração rosa em meio alcalino. Portanto, o álcali (NaOH N/9) é adicionado ao leite até que adquira a coloração rósea. Cada 0,1ml da solução de NaOH N/9 gasto no teste corresponde a 1°D ou 0,1g de ácido láctico/litro (BRITO et al., 2012).

## 2.2.6 Acidez Verdadeira e Acidez Natural no Leite

Como visto, a determinação da acidez em leite, por meio de titulação é mais uma medida da ação tampão do que qualquer outra avaliação.

O leite recém-ordenhado apresenta-se ligeiramente ácido. Esta acidez chamada de acidez natural tem origem de alguns de seus componentes naturais, como: citratos, dióxido de carbono, caseínas, fosfatos e proteínas (MAPA/SDA/CGAL, 2013; DRINC, 2015), gás carbônico dissolvido, albumina (BRITO et al., 2012) e ácidos formados da decomposição da lactose (ÓRDOÑEZ et al., 2005). Veloso (1998) detalha a participação em °D de alguns dos componentes formados na acidez natural do leite, ou os principais componentes com ação tampão na prova de titulação do leite: caseínas (5 a 6°D), fosfatos (5°D), CO<sub>2</sub> (1°D), albumina (1°D) e citratos (1°D), computando-se, assim, a média de 13 a 14°D. Estudos de Walstra, Wouters e Geurts (1999) divulgam valores para caseínas (5,7°D), proteínas séricas (0,9°D), fosfato inorgânico coloidal (1°D), fosfato inorgânico dissolvido (7,8°D), outros compostos (1,6°D), perfazendo a média de AT de 17°D.

Uma alta acidez inicial -na ausência de desenvolvimento de ácido láctico - sugere um leite rico em proteínas e outros constituintes tamponantes intrínsecos (McCARTHY; SINGH, 2009). O termo acidez aparente não deve ser confundido com a acidez que se forma no leite através do crescimento de bactérias, conceituada como acidez real ou verdadeira (BRITO et

al., 2012). Assim, é necessário discorrer sobre a acidez desenvolvida. A acidez desenvolvida resulta da atividade de bactérias produtoras de ácido láctico durante a coleta, transporte e processamento de leite (BELOTI et al., 2015; GEA, 2015). Usualmente um alto valor de AT corresponde ao leite com nível elevado de ácido láctico (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 1999; HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003). A causa do ácido láctico alto seria o processo no qual as bactérias convertem a lactose do leite em ácido láctico. Devido à ação da multiplicação excessiva de bactérias, ocorre transformação da lactose em ácido láctico, fato este que gera valores superiores a 18°D na titulação do leite, sendo um indicativo de acidificação do leite. Este aspecto nada mais é do que um processo fermentativo gerado sobretudo devido a ação dos microrganismos mesófilos sobre o leite cru (SOUZA; ROMERO; ROSA, 2016). A acidez desenvolvida usualmente é mais acentuada em leite não resfriado (GEA, 2015). A lactose, carboidrato do leite, ao ser fermentada por ação de microrganismos forma ácidos orgânicos, em especial o ácido láctico, resultando na chamada acidez adquirida. A acidez adquirida em conjunto com a acidez natural forma a acidez verdadeira do leite (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 1999; HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; MAPA/SDA/CGAL, 2013).

## 2.2.7 Fatores que Influenciam a Acidez no Leite

Diversos fatores podem exercer maior ou menor efeito sobre a composição do leite. Neste sentido, é necessário adequado critério no julgamento da qualidade de um leite, quando simplesmente baseado no ensaio de titulação de acidez (MAPA/SDA/CGAL, 2013).

O teste de acidez deve ser usado com considerável margem de segurança, se utilizado unicamente para classificação na planta industrial, pois leite cru possui ampla variação na acidez, e, é necessário o aumento no número de bactérias para vários milhões por ml de leite para a primeira elevação mensurável de acidez (DRINC, 2015).

A acidez do leite pode ser influenciada por vários fatores como: estágio de lactação, processos inflamatórios e infecciosos da glândula mamária, ação enzimática endógena e exógena (BARBOSA et al., 2006; TRONCO, 2010) alimentação consumida pelas vacas lactantes, fator racial, temperatura ambiental, condições de estresse do animal, estação do ano, saúde geral da vaca, frequência e técnica de ordenha (MAPA/DAS/CGAL, 2013), momento da ordenha, intervalo entre a ordenha e a efetivação da análise da amostra, estresse térmico do animal e a diluição ou ‘aguagem’ do leite (SANTOS; FONSECA, 2004).

A acidez aumenta no caso de contaminação por microrganismos e diminui no caso de leite fraudado com água (diluição) (MAPA/SDA/CGAL, 2013). O crescimento excessivo de bactérias pode elevar acidez a altos níveis, impedindo a recepção e processamento do produto. Nos casos graves de mastite o pH pode atingir 7,5 (leite alcalino) e na presença de colostro cair a 6,0 (leite ácido) (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007).

A acidez do leite de vacas individuais pode variar entre 10 a 26ºD. Em leite de conjunto de rebanhos leiteiros, ou seja, em amostras de tanques de resfriamento, ocorre menor variação da acidez devido à ausência de segregação. Entretanto, acidez do leite elevada pode ser encontrada, com valores de 18 ou até mesmo 23ºD (DRINC, 2015).

A acidez do leite pode ser alterada durante o período de lactação, mas nenhuma tendência pode ser afirmada, exceto que a acidez do colostro é elevada (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007; DRINC, 2015) e o leite no final do período de lactação frequentemente tem acidez inferior (DRINC, 2015).

A mastite, mesmo na forma leve ou subclínica, torna a acidez no leite menor (DRINC, 2015). Valores de pH superiores a 6,7 indicam infecções na glândula mamária, enquanto valores abaixo de 6,5 indicam a presença de colostro (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007; GEA, 2015) ou deterioração bacteriana (GEA, 2015). Em condições extremas, leite de glândulas mamárias com inflamação (mastite) fica alcalino e pode alcançar pH variando entre 7,3 a 7,5 (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007; BRITO et al., 2012). Leite com AT mais alta, dentro da faixa da normalidade, pode apresentar teores de proteína e minerais maiores do que aquelas amostras com AT menor (BRITO et al., 2012). As variações do teor de proteína e das frações proteicas também afetam a AT do leite cru (TÖPEL, 2015).

Dito isto, a interpretação dos resultados aferidos na titulação do leite devem estar atrelados a variados aspectos, como as características de composição, da CCS e das propriedades do leite (FORMAGGIONI et al., 2001; SUMMER et al., 2002). Além disso, algumas interações relacionadas às vacas podem implicar em variações na AT, como as diferenças raciais, aspectos situados no viés do estado fisiológico (idade, ordem e estágio de lactação). Fatores ambientais (sazonalidade, temperatura e umidade) também têm sido demonstrados em afetar a AT do leite (TYRISEVA et al., 2004; MALACARNE et al., 2006).

Desta forma, deve ser considerada a grande variação no nível de AT quando se analisa o leite individualmente de cada vaca. Estas variações individuais são diluídas no leite conjunto armazenado no tanque de resfriamento, sendo que o valor obtido para AT possa alterar-se aos níveis considerados normais (ZAFALON et al., 2005).

## 2.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE

### 2.3.1 Gordura

A gordura é o principal componente energético do leite. É responsável por muitas características, efeitos físicos e qualidade organoléptica, sendo assim, possui grande impacto nos processos de fabricação do leite e produtos lácteos, impactando no rendimento do processamento dos laticínios (BAUMAN; GRIINARI, 2003; MARTINS et al., 2015).

A gordura do leite consiste predominantemente de triglicerídeos, mais de 95%, em todos os mamíferos (BAUMAN; GRIINARI, 2003), alcançando teores de 97-98% (TRONCO, 2010) e de até 99% (ARAÚJO, 2008). Além deste componente, a gordura do leite também se constitui por pequenas quantidades de esteróis, de ácidos graxos livres e de fosfolipídeos (3 a 2%). Apresenta-se na forma de glóbulos, os quais encontram-se revestidos e protegidos por uma membrana de natureza protéica, na qual estão associados fosfolipídeos (ARAÚJO, 2008; TRONCO, 2010) e outras substâncias, como vitaminas (A, D, E, K) e enzimas catalíticas (TRONCO, 2010).

A gordura é o componente do leite com maior variação dentre todos os constituintes (TRONCO, 2010; GONZÁLEZ et al., 2011), sendo que o teor de gordura e a composição de ácidos graxos do leite podem ser marcadamente afetados por fatores da dieta e nutrição (BAUMAN; DAVIS, 1974; DILS, 1986; NEVILLE; PICCIANO, 1997; BAUMAN; GRIINARI, 2003; TRONCO, 2010; GONZÁLEZ et al., 2011), sobretudo quando ocorrem alterações na população e na atividade microbiana do rúmen (MARTINS et al., 2015).

Para muitas espécies, a composição de ácidos graxos de gordura do leite reflete fortemente a composição de ácidos graxos da dieta. Ruminantes são uma exceção porque os lipídios da dieta são alterados pelo metabolismo microbiano no rúmen, e uma das principais mudanças é a biohidrogenação de ácidos graxos polinsaturados (PUFA). A gordura do leite de ruminantes é estimada em mais de 400 diferentes ácidos graxos, este aspecto ocorre em grande parte ao metabolismo lipídico que ocorre no rúmen (JENSEN, 2002). Os ácidos graxos no leite provêm de duas fontes, captação da circulação e síntese de novo nas células epiteliais mamárias (BAUMAN; DAVIS, 1974; DILS, 1986; NEVILLE; PICCIANO, 1997).

### 2.3.2 Proteína

A proteína é o nutriente mais valorizado nos atuais sistemas de pagamento por qualidade do leite, sendo a caseína seu principal componente (GONZÁLEZ et al., 2011). O teor de proteína, varia de 2,8 a 4,0% do total de leite produzido, sendo também proporcional ao teor de gordura presente (FARRELL et al., 2004). As proteínas do leite são formadas por dois grupos: as caseínas (aproximadamente 80%) (FARRELL et al., 2004; ORDÓÑEZ, 2005) e proteínas do soro (20%) (ORDÓÑEZ, 2005; FONSECA; SANTOS, 2007; BRITO; COSTA; BRITO, 2013; BELOTI et al., 2015), lactoalbuminas, albumina sérica, imunoglobulinas, componentes secretores e lactoferrina (FARRELL et al., 2004).

A caseína é uma substância coloidal, de conformação quaternária, está associada ao cálcio e ao fósforo na forma de citratos e fosfatos, precipita-se em pH baixo ou, devido a ação de coalhos ou de álcool. Essa proteína representa uma micela formada por submicelas de: alfa, beta, gama e kappa caseínas (ORDÓÑEZ, 2005). As proteínas do soro de origem sérica são constituídas pela albumina, alfalactoalbumina, beta-lactoglobulina, imunoglobulinas (IgA, IgG e IgM) e peptonas (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006; TRONCO, 2010).

Todas as caseínas e as proteínas do leite, com exceção as soroalbuminas e as imunoglobulinas, são sintetizadas por células epiteliais da glândula mamária a partir de aminoácidos sanguíneos (BELOTI et al., 2015).

### 2.3.3 Lactose

A lactose é o carboidrato presente exclusivamente no leite (FOX; McSWEENEY, 1998; BRITO; COSTA; BRITO, 2013) sendo um dissacarídeo formado por uma molécula de glicose e uma de galactose, e é sintetizada no Complexo de Golgi das células secretoras da glândula mamária (FOX; McSWEENEY, 1998). A lactose constitui-se um açúcar redutor com grupamento aldeído livre ou potencialmente livre da molécula de glicose (BRITO; COSTA; BRITO, 2013). Sua síntese é mediada pela alfa-lactoalbumina, uma soroproteína das células secretoras alvéolares (BRITO; COSTA; BRITO, 2013; BELOTI et al., 2015).

A síntese de lactose é um dos mecanismos críticos para sustentar a produção de leite (GONZÁLEZ et al., 2011), e possui importante função no equilíbrio osmótico do leite (FOX; McSWEENEY, 1998; GONZÁLEZ et al., 2011; BRITO; COSTA; BRITO, 2013; BELOTI et al., 2015), fazendo com que a água seja transferida do sangue para o leite até que sua concentração seja equilibrada (BRITO; COSTA; BRITO, 2013; BELOTI et al., 2015) sendo a

principal responsável pela manutenção da pressão osmótica, junto com os íons sódio, potássio e cloreto na glândula mamária (FOX; McSWEENEY, 1998). Cada grama de lactose possui a característica em arrastar até 10 vezes seu volume em água (FONTANELLI, 2001). Dessa maneira é o elemento do leite cuja concentração é mais estável e determina a concentração dos outros componentes que ficam sujeitos à diluição na água (GONZÁLEZ et al., 2011; BRITO; COSTA; BRITO, 2013; BELOTI et al., 2015). Em média, a lactose representa 52% do EST do leite e 70% dos sólidos encontrados no soro do leite e o seu teor regula a água presente na glândula mamária e o volume de leite produzido (SANTOS; FONSECA, 2007).

#### **2.3.4 Extrato Seco Total**

O teor de sólidos no leite tem sido cada vez mais valorizado pelas indústrias de laticínios, pois apresentam relação direta com o rendimento industrial de derivados lácteos (BEZERRA et al., 2011; ECKSTEIN et al., 2014). De acordo com Picinin et al. (2001) a determinação destes valores é importante para avaliar a composição e integridade do leite, além de favorecer sua classificação para posterior processamento. Na composição do leite, constam a parte úmida, representada pela água, e a parte sólida, representada pela gordura e o extrato seco total (EST). O EST é representado pela gordura, açúcar, proteínas e sais minerais. Quanto maior esses componentes no leite, maior o rendimento dos produtos derivados lácteos. O teor do ESD normatizado deve corresponder no mínimo a 11,4% da composição do leite (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017).

O leite é uma combinação de 88% de água e diversos elementos sólidos que representam aproximadamente 12% de EST (PALES et al., 2005), podendo variar de 12% a 14% para os EST e entre 86% a 88% para a água (NORO; GONZÁLEZ, 2001). O EST do leite engloba todos os seus componentes, exceto a água (BRITO et al., 2003), dividindo-se em dois grupos, os lipídios e os sólidos não gordurosos (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007). Na constituição do EST do leite encontram-se as concentrações de lactose, de proteína, de gordura, além de sais minerais como o cálcio e fósforo, vitaminas do complexo B, vitamina A, D, E e K (BRITO et al., 2003).

### 2.3.4.1 Fatores que influenciam a composição do extrato seco total no leite

Dentre os fatores que influenciam o percentual de extrato seco total (EST) no leite a participação da gordura merece destaque. Assim, diferentes resultados encontrados nos níveis de EST atribuem-se às alterações nos teores de gordura no leite (PITOMBO, 2008).

O Brasil tem possibilidades de melhorias nos teores de EST do leite, alcançando teores como os países Nova Zelândia e Austrália, com índices em torno de 15% (RUBEZ, 2004). Práticas de manejo como limpeza do local de ordenha, higiene do ordenhador, uso de solução desinfetante nos tetos antes e depois da ordenha, secagem do teto com papel toalha, higiene dos utensílios e equipamentos, manutenção dos equipamentos e temperatura adequada dos refrigeradores, auxiliam no controle da mastite e diminuem as perdas nos componentes do leite, bem como mantêm o EST em níveis adequados (DÜRR, 2005; CANI; FRANGILO, 2008). O tratamento adequado de casos clínicos de mastite, o descarte de vacas cronicamente infectadas, boa nutrição e alimentação das vacas após a ordenha são também citadas como medidas auxiliares na melhoria dos níveis do EST do leite (WATTIAUX, 1996). Úberes com mastite diminuem a concentração de nutrientes do leite, além dos principais minerais e enzimas também sofrerem variações (PALES, et al., 2005). Diminuições nos teores de EST ocorrem conforme avança a contaminação bacteriana em tanques de refrigeração (BUENO et al., 2008). Níveis de CCS altos também estão associados na interferência da concentração do EST no leite, sendo que, CCS superiores a 200.000 cél/mL são suficientes para determinar alterações nos teores de EST do leite (BUENO et al., 2005). Campos et al. (2006) avaliaram a composição do leite com a quantidade de CCS em diferentes períodos da primeira fase da lactação, constatando-se queda nos índices de EST devido ao baixo teor de lactose, e não ao escore de CCS; portanto, correlacionando a diminuição destes sólidos à redução na produção de lactose. Entretanto, Bueno et al. (2005) observaram redução nos teores de proteína e lactose do leite, conforme o aumento no índice de CCS, e, deste modo, atribuindo-se queda significativa nos teores EST, enquanto Gomes et al. (2006) atribuíram a queda devido a menor concentração de gordura no leite de vacas com mastite. Em contrapartida, Oliveira e Timm (2006) não encontraram diferença significativa nos teores de EST, devido ao mecanismo de compensação no nível da gordura láctea, frente à queda dos níveis de lactose do leite. O fator genético representa uma forma bastante segura de se potencializar os teores de EST, dessa forma, pesquisadores têm buscado diferentes cruzamentos raciais, visando elevar a produção deste componente no leite (PITOMBO, 2008).

### 2.3.5 Extrato Seco Desengordurado

Na composição do leite, o extrato seco desengordurado (ESD) compreende todos os seus componentes, menos a gordura (BRASIL, 1981; PICININ et al., 2001; BRASIL 2011; BRASIL 2017), devendo corresponder no mínimo a 8,4% (BRASIL 2011; BRASIL 2017). Assim como ocorre com os teores do EST, também se encontram pesquisas apontando diferentes teores ao ESD do leite. Na composição do leite encontram-se, em média, 9% de ESD (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006), 8,5% (MACHADO et al., 2003; HORST; VALOTO, 2008) e 8,6% (PICININ, 2003; BUENO et al., 2004; FONSECA et al., 2008).

#### 2.3.5.1 Fatores que influenciam a composição do extrato seco desengordurado no leite

O percentual de ESD no leite reduz progressivamente conforme aumenta a idade da vaca lactante. Dentro de um ciclo de lactação o ESD apresenta variação inversa à curva de produção de leite. No primeiro mês o ESD é alto, diminuindo no segundo mês, concomitante ao pico de produção de leite e, voltando a subir no estágio final da lactação, conforme a produção decresce. A gestação determina leve aumento no ESD, pelo fato de haver pequena queda na produção de leite após a concepção e consequente concentração dos componentes no leite (HARRIS JUNIOR; BACHMAN, 2003; BELOTI et al., 2015). A ocorrência de enfermidades, sobretudo mastites, podem causar alterações na composição do leite. Animais com mastite clínica, e até subclínica, apresentam queda no teor de ESD, pois há redução nos teores de lactose e também de proteína do leite (KITCHEN, 1981), sendo estes dois componentes os principais formadores do ESD do leite.

A lactose é importante para as propriedades coligativas do leite: pressão osmótica, abaixamento do ponto crioscópico e elevação do ponto de ebulição, sendo responsável por cerca de 50% na pressão osmótica do leite. Variações nos teores de lactose estão associadas com variações recíprocas de constituintes solúveis em água, especialmente sódio e cloreto (VARNAM; SUTHERLAND, 2001). Alterações advindas da inflamação na glândula mamária permitem a passagem de lactose para a corrente sanguínea e de íons da corrente sanguínea para o leite, especialmente o cloreto, gerando alterações na composição do leite. Outro fator que reduz o teor de lactose é o déficit energético (ALESSIO et al., 2016) e situações de estresse térmico enfrentados pelas vacas lactantes. Há um aumento da glicólise e da respiração anaeróbia para manter o equilíbrio energético durante situações de estresse

térmico (TIAN et al., 2015), sendo que a diminuição da glicemia pode explicar a redução do teor de lactose (SCHWARTZ et al., 2009).

A proteína do leite sofre influência racial e do nível de produção de leite, porém menos marcante que a gordura (CSIRO, 2007). O aumento na CCS não determina grandes alterações no teor de proteínas totais do leite (TOMAZI et al., 2015), devido à redução na síntese de caseína, acompanhada por aumento na passagem de proteínas plasmáticas para o leite (URECH; PUHAN; SCHÄLLIBAUM, 1999), sendo então pouco significativa na redução do ESD, a ponto de não gerar inconformidades. O estresse térmico também determina redução no teor de proteínas do leite. O catabolismo muscular aumenta durante o estresse térmico, ocorrendo maior concentração no nitrogênio ureico plasmático, favorecendo a maior redistribuição do nitrogênio proteico para a formação da ureia (WHEELOCK et al., 2010), deste modo, torna-se menor a habilidade da síntese proteica nas células mamárias, reduzindo-se o teor de caseína (BERNABUCCI et al., 2002). Além disto, também ocorre redução no consumo de alimento pelas vacas leiteiras em estresse térmico (RHOADS et al., 2009), podendo reduzir os teores de lactose e proteína no leite. Como resposta às variações nos teores de lactose e proteínas observa-se variação no teor de ESD. Essa variação considerável pode ser explicada por teores de proteína menores, principalmente advinda do menor teor de lactose no leite (GONZALEZ et al., 2004).



### 3 HIPÓTESES E OBJETIVOS

#### 3.1 HIPÓTESES

- a) a acidez titulável baixa tem relação com a composição e indicadores de qualidade do leite e da saúde da glândula mamária;
- b) condições meteorológicas e as variações sazonais aos quais os animais estão submetidos podem afetar a acidez e o extrato seco desengordurado do leite;
- c) o estágio fisiológico das vacas (idade, nível de produção e estágio de lactação) podem estar relacionados como fatores que afetam a acidez titulável e o extrato seco desengordurado do leite;
- d) o teor do extrato seco desengordurado do leite tem relação com a sazonalidade, com os indicadores de qualidade do leite e da saúde da glândula mamária.

#### 3.2 OBJETIVOS

##### 3.2.1 Objetivo Geral

Identificar os fatores que estão relacionados à baixa acidez titulável em amostras de leite cru de compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte, em amostras de leite individuais de vacas e em amostras de leite conjunto de rebanhos de estabelecimentos rurais e do baixo teor do extrato seco desengordurado em amostras de leite conjunto de rebanhos de estabelecimentos rurais.

##### 3.2.2 Objetivos Específicos

- a) avaliar a qualidade do leite nos estabelecimentos rurais pesquisados;
- b) mensurar os principais indicadores de qualidade da atividade leiteira em conformidade à legislação e relacioná-los a baixa acidez titulável e ao baixo teor do extrato seco desengordurado do leite;
- c) caracterizar a baixa acidez titulável e o baixo teor de extrato seco desengordurado do leite;
- d) identificar a influência de fatores intrínsecos aos animais (estágio de lactação, idade da vaca, nível de produção do leite, raça ou grupamento genético) e ambientais

(época do ano, região, volume de leite produzido por rebanho) sobre a baixa acidez titulável do leite e sobre o baixo teor do extrato seco desengordurado do leite;

- e) avaliar o efeito do manejo e de estratégias de alimentação animal sobre a prevalência de baixa acidez e do baixo teor do extrato seco desengordurado do leite;
- f) avaliar o efeito do estresse térmico sobre a prevalência de baixa acidez do leite.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS – GERAL

Neste tópico serão apresentados os aspectos gerais dos quatro estudos abordados na construção da metodologia utilizada nos estudos da baixa acidez titulável (AT) do leite, sendo posteriormente apresentados com maior detalhamento nos respectivos capítulos. No estudo do baixo teor de extrato seco desengordurado (ESD) do leite, toda a metodologia está detalhada no respectivo capítulo.

Todos os experimentos foram conduzidos por pesquisadores das respectivas universidades, sendo aprovado, cada qual, em seu respectivo comitê de ética em pesquisa.

Os estabelecimentos rurais participantes do estudo foram caracterizados por meio de um questionário guia semi-estruturado (Apêndice A), devidamente autorizado pelos produtores (Anexo B), sob a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) sob o nº referência CAAE: 62609716.9.0000.0118, parecer número 1.934.125, em 20/02/2017, na Plataforma Brasil - Ministério da Saúde.

**ESTUDO 1:** Análise de grupos de experimentos sobre baixa acidez titulável em amostras de leite individuais de vaca.

Esta primeira fase da pesquisa constituiu-se da análise de dados de experimentos desenvolvidos pelo grupo de pesquisa em qualidade do leite do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (PPGCA) do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC) e de pesquisas em duas instituições de ensino parceiras - Universidade Federal do Rio Grande do SUL (UFRGS) e Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL). Esta etapa forneceu subsídios relativos a variáveis envolvidas com a AT em amostras individualizadas de leite por vaca.

**ESTUDO 2:** Análise de grupos de experimentos sobre baixa acidez titulável em amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais.

Para a análise de experimentos de amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais foram acessados dados de cinco pesquisas. Estas amostras foram coletadas de estabelecimentos rurais situados nas regiões Sul, Planalto Serrano e Oeste do Estado de Santa Catarina, sempre com a participação de integrantes dos grupos de pesquisa em qualidade do leite das instituições CAV/UDESC/SC, UFRGS/RS e UNISUL/SC.

Os estudos 1 e 2 foram agrupados na confecção do artigo científico apresentado no Capítulo II.

**ESTUDO 3:** Estudo retrospectivo sobre a baixa acidez titulável em amostras de leite de compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte de leite.

Para melhor compreender a relação entre baixa AT do leite com as condições meteorológicas e, eventualmente, efeitos das variações sazonais sobre os animais, foi realizado um estudo histórico temporal sobre a prevalência desta não conformidade em amostras de leite oriundas de compartimento isotérmico de caminhões tanque de primeiro transporte de leite, ou seja, ou seja, do estabelecimento rural até a plataforma de recepção do laticínio. A indústria parceira dos estudos é o Lacticínios Tirol LTDA, mais especificamente a matriz do laticínio, sediada no município de Treze Tílias, situado na mesorregião Meio-Oeste do Estado de Santa Catarina, pertencendo a microrregião do município de Joaçaba.

Paralelamente foram utilizados dados meteorológicos referentes ao período de estudo, cedidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), oriundos da estação experimental de Joaçaba, ou seja, mesma microrregião a qual está localizado o laticínio parceiro da pesquisa e, também onde se situam os estabelecimentos rurais objeto de pesquisa.

**ESTUDO 4:** Análises de amostras de leite individuais de vacas, de amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais e de dados zootécnicos de estabelecimentos rurais identificados com leite de baixa acidez titulável.

A pesquisa foi desenvolvida a partir dos resultados da análise da titulação da acidez do leite conjunto de estabelecimentos rurais. Foram analisados dados de parte de produtores de leite, no Estado de Santa Catarina que comercializaram sua produção ao laticínio parceiro da pesquisa. Nos estabelecimentos rurais identificados com baixa AT foram coletadas amostras individuais de leite das vacas e também do leite conjunto.

Nos quatro estudos, para fins de análises estatísticas, a variável AT foi transformada em variável binária, sendo caracterizada em duas classes, considerando-se baixa AT quando  $<14^{\circ}\text{D}$  e AT normal quando  $\geq 14^{\circ}\text{D}$ . Também se padronizou os valores de P, sendo considerados como P  $<0,05$  significativamente diferentes e valores de P entre 0,05 e 0,10 foram considerados como tendência.

Os estudos 3 e 4 foram agrupados na confecção do artigo científico apresentado no Capítulo III.

A CPP do leite é o método de referência para a contagem bacteriana segundo a International Dairy Federation (IDF) e a American Public Health Association (APHA) na determinação da CBT no leite cru, estimando o número de microrganismos aeróbios mesófilos. Este método é baseado no potencial de crescimento dos microrganismos na amostra, ou seja, capacidade em formarem colônias visíveis macroscopicamente, podendo ser contadas em UFC (APHA, 1992). De acordo com a International Standard 4833 (2003), a técnica consiste na enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios facultativos viáveis.

A metodologia de referência para a enumeração de microrganismos é o método CPP, porém outro método comumente utilizado para análise microbiológica em leite cru é o método de citometria de fluxo (SUHREN; REICHMUTH; HEESCHEN, 1992). Ambos os métodos detectam as bactérias em graus diferentes, baseando-se assim em princípios distintos, como a contagem bacteriana individual (CBI), pela citometria de fluxo ou unidade formadora de colônia (UFC), pela CPP (SUHREN; WALTE, 2000). Como a legislação estabelece que os valores de CBT do leite devam ser expressos em UFC/mL, os resultados obtidos pelo citômetro de fluxo são transformados estatisticamente, aplicando-se uma equação de correlação entre os métodos (CASSOLI; MACHADO; RODRIGUES, 2008).

A RBQL desenvolveu junto ao MAPA um estudo de correlação determinando as equações de regressão linear para conversão dos resultados, sendo fundamental que os equipamentos utilizados em cada laboratório gerem resultados similares, tanto expressos em contagem bacteriana individual (CBI), como quando expressos em UFC (BRASIL, 2016). Estas correlações contemplam os resultados obtidos de leite cru de todas as regiões do país. O tratamento estatístico desta equação, bem como a determinação dos valores de logaritmo de CBI e logaritmo de CPP são de responsabilidade do MAPA. A conversão dos valores de medição de CBI em CPP, reportadas em UFC/mL, é realizada por meio de uma equação de regressão linear, por comando no software do equipamento. A partir de outubro de 2013 padronizou-se a nomenclatura para expressão dos resultados, substituindo-se CBT (UFC x 1000 mL<sup>-1</sup>) por CPP (UFC x 1000 mL<sup>-1</sup>).

Seguindo orientações da Instrução de Serviço da RBQL (BRASIL, 2016) designa-se o valor de CPP aquele obtido da conversão dos resultados de CBI gerados pelo citômetro de fluxo, expressos em UFC/mL. Os resultados em CBI/mL são transformados em logaritmo de base 10, no intuito em se promover maior homogeneidade aos dados. No Brasil, os resultados de CPP obtidos eletronicamente são reportados em UFC/mL, pois os limites legais analíticos são representados por esta mesma unidade de medida (VANCIN, 2018).



## REFERÊNCIAS

ALESSIO, D. R. M. et al. Multivariate analysis of lactose content in milk of Holstein and Jersey cows. **Semina: Ciencias Agrarias**, v. 37, n. 4, p. 2641–2652, 2016.

AMMOC (Associação dos Municípios do Meio Oeste Catarinense). **Municípios associados**. Disponível em <<http://www.ammoc.org.br/index/municipios-associados/codMapaItem/42462>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

APHA. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. Washington: APHA, 1992.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos**: teoria e prática. 4. ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2008.

BARBOSA, R. S. et al. 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: CONGRESSO PANAMERICANO DE LEITE; 9. 2006. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre – RS, 2006.

BAUMAN, D. E.; DAVIS, C. L. Biosynthesis of milk fat. In: LARSON, B. L.; SMITH, V. R. (Ed.). **Lactation**: a comprehensive treatise. New York: Academic, 1974. v. 2, p. 31–75.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.

BELOTI, V. et al. **Leite**: obtenção, inspeção e qualidade. Londrina: Planta, 2015.

BERNABUCCI, U. et al. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. **Animal Reserch**, v. 51, p. 25-33, 2002.

BEZERRA, J. R. M. V. et al. **Introdução à tecnologia de leite e derivados**. Guarapuava: Unicentro, 2011.

BODENMÜLLER FILHO, A. et al. Tipologia de sistemas de produção baseada nas características do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 1832-1839, 2010.

BRASIL Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Leite Fluido.** In: *Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. II Métodos Físicos e Químicos.* Brasília, 1981. Cap. 14.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite.** Instrução Normativa 51, 18/09/02. Brasília: Ministério da Agricultura, 2002.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 37 de 18/04/2002. Instituir a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite. **Diário Oficial da União.** Brasília/DF, 18 de abril de 2002a.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos físico químicos para controle de leite e produtos lácteos.** Instrução Normativa 68, 12/12/06. Brasília: Ministério da Agricultura, 2006.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p. 8, 2011.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. **Determinação do extrato seco total e desengordurado em leite fluido por método gravimétrico.** MAPA/SDA/CGAL Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/RS Laboratório de Produtos de Origem Animal Método de Ensaio – MET. 15 jul. 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/arquivos-metodos-da-area-poa-iqa/met-poa-08-02-est-e-esd-em-leite-fluido.pdf>>. Acesso em: 19 mar. 2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução de Serviço. Laboratório Nacional Agropecuário / Divisão Técnica Laboratorial / Laboratório de Referência à RBQL e Controle da Qualidade do Leite. Pedro Leopoldo/MG, 2016.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2017.

BRITO, M. A. et al. **Composição. EMBRAPA:** Agronegócio do leite. 2003. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_128\\_21720039243.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html)>. Acesso em: 4 set. 2008.

\_\_\_\_\_ et al. **Acidez titulável**. Agência de Informação Embrapa, 2012. Disponível em:[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_194\\_21720039246.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_194_21720039246.html). Acesso em: 05 fev. 2015.

BRITO, M. A. P. E; COSTA., F. F.; BRITO, J. R. **Aspectos associados á qualidade do leite: composição, saúde do úbere e resíduos químicos**. Qualidade microbiológica do leite cru. Viçosa, MG: EPAMIG Zona da Mata, 2013.

BUENO, P. R. B. et al. Valor econômico para componentes do leite no Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, supl. 3, p. 2256-2265, 2004.

BUENO, V. F. F. et al. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 848-854, jul./ago. 2005.

\_\_\_\_\_ et al. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 15, n. 1, p. 40-44, jan/abr. 2008.

CALDEIRA, L. A. et al. Caracterização do leite comercializado em Janaúba – MG. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 191-195, abr/jun. 2010.

CAMPOS, R. et al. Indicadores do ambiente ruminal e suas relações com a composição do leite e células somáticas em diferentes períodos da primeira fase da lactação em vacas de alta produção. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 525-530, mar./abr. 2006.

CANI, P. C.; FRANGILO, R. F. **Como produzir leite de qualidade**. 2008. Disponível em: <<http://www.seag.es.gov.br/wp-content/uploads/2008/05/861.pdf>>. Acesso em: 5 mar. 2009.

CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F.; RODRIGUES, A. C. O.; et al. Correlation study between standard plate count and flow cytometry for determination of raw milk total bacterial count. **International Dairy of Technology**, v. 60, n. 1, 2008.

CHAPAVAL, L.; PIEKARSKI, P. R. B. **Leite de qualidade**: manejo reprodutivo, nutricional e sanitário. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000.

CSIRO. **Nutrient requirements of domesticated ruminants**. CSIRO publishing, 2007.

DILS, R. R. Comparative aspects of milk fat synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 904–910, 1986.

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. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 10, p. 95-100, 2003.

DRINC (DAIRY RESEARCH AND INFORMATION CENTER). Department of Food Science & Technology University of California. **Um resumo de acidez titulável**. Davis, CA.: DRINC. Disponível em: <<http://drinc.ucdavis.edu/dairychem5.htm>>. Acesso em: 06 fev. 2015.

DÜRR, J. W. Limites da contaminação bacteriana. In: DÜRR, J. W. **Como produzir leite de alta qualidade**. Brasília: Serviço nacional de aprendizagem rural, 2005. Cap. 5, p. 10.

ECKSTEIN, I. I. et al. Qualidade do leite e sua correlação com técnicas de manejo de ordenha. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 13, n. 2, p. 143-151, 2014.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). EMBRAPA Gado de Leite. **Panorama do leite**, a. 6, n. 75, 2013.

FARRELL, H. M. et al. Nomenclature of the proteins of cow's milk: sixth revision. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1641-1674, 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Food outlook**: biannual report on global food markets. Roma: FAO, jun. 2017.

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

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2007.

FONSECA, L. M. et al. Situação da qualidade do leite cru em Minas Gerais: 2007/2008. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 3, 2008, Recife. **Anais...** set. 2008. p. 53-70.

**FONTANELLI, R. S. Fatores que afetam a composição e as características físico-químicas do leite.** Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS. 2001.

FORMAGGIONI, R. et al. Milk with abnormal acidity. The role of phosphorus content and the rennet-coagulation properties of Italian Friesian herd milk. **Ann Fac Med Vet Univ Parma**, v. 21, p. 261–268, 2001.

FOSTER, E. M. et al. **Dairy microbiology**. Prentice- Hall, 1997. p. 9-10.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1998.

GEA. Process Engineering Pty. Ltd. **Análises do leite cru**. Disponível em: <<http://www.geap.com.au/gpau/cmsdoc.nsf/WebDoc/ndkw74aaj8>>. Acesso em: 03 fev. 2015.

GLANTZ, M. et al. Effects of animal selection on Milk composition and processability. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 9, p. 4589-4603, 2009.

GOMES, V. et al. **Composição físico-química do leite de vacas holandesas de acordo com a reatividade ao “Califórnia Mastitis Test”**. 2006. Disponível em: <[http://unianhanguera.edu.br/programasinst/Revistas/revistas2006/rev\\_veterinaria\\_2/02.pdf](http://unianhanguera.edu.br/programasinst/Revistas/revistas2006/rev_veterinaria_2/02.pdf)> Acesso em: 19 jul. 2008.

GONZALEZ, H. D. L. et al. Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos Meses do Ano Evaluation of Milk Quality on Different Months of Year at Pelotas Dairy Basin, RS. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1531–1543, 2004.

GONZÁLEZ, F. D. et al. **Qualidade do leite bovino**: variações no trópico e no subtrópico. Passo Fundo: Ed. da UPF, 2011.

GUIMARÃES, F. F.; LANGONI, H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. **Revista de Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n.1, p. 38-51, 2009.

HARRIS JUNIOR, B.; BACHAMAN, K. C. **Nutritional and management factors affecting solid-non-fat, acidity and freezing point of milk**. Gainesville, Institute of Food and Agricultural Sciences, Florida Cooperative Extension Service, 2003. Disponível em <<http://ufdcimages.uflib.ufl.edu/ir/00/00/47/70/00001/ds15600.pdf>>. Acesso em: 27 dez. 2017.

HORST, J. A.; VALOTO, A. A. Programa de análise de rebanhos leiteiros do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE; 3., 2008, Recife. **Anais...** set. 2008. p. 35-44.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Indicadores IBGE. **Estatística da produção pecuária**. Rio de Janeiro: IBGE, out./dez. 2017. Disponível em <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE/abate-leite-couro-ovos\\_201703caderno.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201703caderno.pdf)>. Acesso em: 13 fev. 2018.

\_\_\_\_\_. **Produção Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v. 44, p.1-51, 2016.

INTERNATIONAL STANDARD. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30°C. **ISO Standard**, n. 4833. Switzerland: International Standard, 2003.

JENSEN, R. G. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. **Journal Dairy Science**, v. 85, p. 295–350, 2002.

KITCHEN, B. Y. B. J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Science**, v. 48, p. 167–188, 1981.

MACHADO, P. F. et al. O. Panorama da qualidade do leite na região Sudeste, São Paulo. In: BRITO, J. R. F. et al. **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, v. 168, p.37-45, jun. 2003.

MALACARNE, M. et al. Composition, coagulation properties and Parmigiano-Reggiano cheese yield of Italian Brown and Italian Friesian herd milks. **Journal of Dairy Reserch**, v. 73, p. 171–177, 2006.

MAPA/SDA/CGAL. Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/RS). Laboratório de Produtos de Origem Animal Método de Ensaio. MET. **Determinação de acidez titulável em leite fluido**. p. 1 – 4, 22 abr. 2013. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%202020%2001%20Acidez%20em%20leite%20fluido.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%202020%2001%20Acidez%20em%20leite%20fluido.pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2015.

MARTINS, C. M. M. R. et al. Effect of dietary cation-anion difference on performance of lactating dairy cows and stability of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.1-12, 2015.

McCARTHY, O. J.; SINGH, H. Physico-chemical Properties of Milk. In: Advanced Dairy Chemistry, Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents. McSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F. (Eds.). **Springer Science Business Media**. New York, NY, 2009, p. 691-758.

NEVILLE, M. C.; PICCIANO, M. F. Regulation of milk lipid secretion and composition. **Annual Review Nutrition**, v. 17, p. 159–84, 1997.

NORO, G.; GONZÁLEZ, F. H. D. **Síntese e secreção do leite**. 2001. Disponível em: <[www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/sintese\\_leite.pdf](http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/sintese_leite.pdf)> Acesso em: 04 jun. 2008.

\_\_\_\_\_ et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por 78 cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006.

OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 259-263, abr./jun. 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 1.

\_\_\_\_\_ et al. **Tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 2.

PALES, A. P. et al. A importância da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total para a melhoria da qualidade do leite no Brasil. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás. v. 1, n. 2, p. 162-173, nov. 2005. Disponível em: <[http://www.fmb.edu.br/revista/volume1\\_n2\\_a.php](http://www.fmb.edu.br/revista/volume1_n2_a.php)>. Acesso em: 4 jun. 2008.

PERES, J. R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: FÉLIX, H.D. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2001. p. 30-45.

PICININ, L. C. A. **Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais**. 2003. 89 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (EV/UFMG), Belo Horizonte, MG, 2003.

\_\_\_\_\_ et al. Qualidade química de leite cru resfriado. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 18, 2001, Juiz de Fora. Anais do XVIII Congresso Nacional de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v. 56, n. 321, p. 294-300, jul./ago., 2001.

PITOMBO, L. H. Cruzamentos para aumentar sólidos. **Revista Balde Branco**. São Paulo, set., 2008. Disponível em: <<http://www.centraldapecuaria.com.br/artigos/visualiza.asp?artigo=28>>. Acesso em: 18 jul 2010.

RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1986-1997, 2009.

RUBEZ, J. **A era dos sólidos totais**. 2004. Disponível em: <[http://www.leitebrasil.Org.br/artigos/jrubez\\_094.htm](http://www.leitebrasil.Org.br/artigos/jrubez_094.htm)>. Acesso em: 9 jun. 2008.

SANTA CATARINA. Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca. **Produção catarinense de leite aumenta 82% em dez anos**. Florianópolis, 16 jan. 2018. Disponível em: <<http://www.agricultura.sc.gov.br/index.php/noticias/627-producao-catarinense-de-leite-aumenta-82-em-dez-anos>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Monitoramento da qualidade do leite**. Módulo 1: Composição e propriedades físico-químicas do leite. AGRPOINT, 2004.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007.

SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM). **Statistical analysis system user's guide: statistics**. Version 8.2, Cary: SAS Institute, 2002.

SHWARTZ, G. et al. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 3, p.935-942, 2009.

SILVA, M. C. D. et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 226-230, jan./mar. 2008.

SILVA, P. H. F. et al. **Físico-química do leite e derivados**: métodos analíticos. Juiz de Fora, 1997.

SOUZA, H. P. M.; ROMERO, N. B.; ROSA, C. C. B. Occurrence of unstable milk not acid in the north state of Mato Grosso, Brazil. **Revista Inst. Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 71, n. 1, 2016.

SUHREN, G.; REICHMUTH, J.; HEESCHEN, W. Relative detection of pure cultures by various methods relating to macrocolony counts as reference method. **Milchwissenschaft**, v. 47, n. 4, 1992.

SUHREN, G.; WALTE, H. G. First experiences with automatic flow cytometric determination of total bacterial count in raw milk. **Bulletin of the IDF**, Brussels: International Dairy Federation, n. 358, 2000.

SUMMER, A. et al. Structural and functional characteristics of Modenese cow milk in Parmigiano-Reggiano cheese production. **Ann Fac Med Vet Univ Parma**, v. 22, p. 163–174, 2002.

TIAN, H. et al. Identification of Diagnostic Biomarkers and Metabolic Pathway Shifts of Heat-Stressed Lactating Dairy Cows. **Journal of Proteomics**, v. 125, p.17-28, 2015.

TOMAZI, T. et al. Bovine subclinical intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci increases somatic cell count but has no effect on milk yield or composition. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 5, p. 3071–3078, 2015.

TÖPEL, A. **Chemie und Physik der Milch**. Naturstoff, Rohstoff, Lebensmittel. Hamburg: Behr's Verlag; 2015.

TORMO, M.; IZCO, J. M. Alternative reversed-phase high-performance liquid chromatography method to analyse organic acids in dairy products. **Journal of Chromatography A**, v. 1033, p. 305–310, 2004.

TRIPATHI, M. K. Effect of nutrition on production, composition, fatty acids and nutraceutical properties of milk. **Advances in Dairy Research**, v.2, p.1-11, 2014.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2010.

TYRISEVA, A. M. et al. Noncoagulation of milk in finnish ayrshire and holstein-friesian cows and effect of herds on milk coagulation ability. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3958–3966, 2004.

URECH, E.; PUHAN, Z.; SCHÄLLIBAUM, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 11, p. 2402–2411, nov. 1999.

VANCIN, F. R. **Conservação de amostras de leite cru utilizando diferentes concentrações de azida sódica e cloranfenicol**. 2018. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciencia e Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo/RS, 2018.

VARGAS, D. P. de. et al. Qualidade e potencial nutracêutico do leite bovino em diferentes sistemas de produção e estações do ano. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 50, n. 12, p. 1208-1219, dez. 2015.

VARNAM, A.; SUTHERLAND, J. P. **Milk and milk products: technology, chemistry and microbiology**. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publication, 2001. v. 1.

VELOSO, C. R. V. Noções básicas da acidez. In: BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **A qualidade do leite**. Juiz de Fora. São Paulo: Tortuga, 1998. p.91-98.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. **Características do leite**. Universidade Federal do Espírito Santo. Boletim Técnico. 2007. Disponível em: <[http://www.agais.com/telomc/b01007\\_caracteristicas\\_leite.pdf](http://www.agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2015.

WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist ? **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, p. 189-192, 1999.

\_\_\_\_\_; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. 2.nd. ed. Oxford: Taylor & Francis, 1999.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. **Dairy science and technology**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 2006.

\_\_\_\_\_; JENNESS, R. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1984.

\_\_\_\_\_. et al. **Dairy technology**. Principles of milk properties and processes. Marcel Dekker, 2002.

WATTIAUX, M. A. **Mastitis**: the disease and its transmission. Babcock Institute International Dairy Research and Development UW - Madison, Wisconsin. 1996. Disponível em: <<http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/de/23.en.pdf>> Acesso em: 2 jun. 2008.

WEBB, B.; JOHNSON, A. H.; ALFRORD, J. **Fundamentals of Dairy Chemistry**; vi Publishing Company, 1974.

WHEELOCK, J. B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 644-655, 2010.

ZAFALON, L. F. et al. Alterações da composição e da produção de leite oriundos de quartos mamários de vacas com e sem mastite subclínica de acordo com o estágio e o número de lactações. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.4, p.419-426, out./dez., 2005.

ZOCCAL, R. Dez países top no leite. **Revista Balde Branco**, São Paulo, 17 abr. 2017. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/dez-paises-top-no-leite/>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

\_\_\_\_\_. et al. A nova pecuária leiteira brasileira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE; 3. 2008. Recife. **Anais...** Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008. p. 85-95.



## **CAPITULO II – ARTIGO CIENTIFICO**

### **VARIÁVEIS RELACIONADAS À BAIXA ACIDEZ TITULÁVEL EM LEITE DE VACAS INDIVIDUAIS E EM LEITE CONJUNTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS: ANÁLISE DE GRUPOS DE EXPERIMENTOS**

\*Luís Carlos Arruda Junior<sup>1</sup>, Dileta Regina Moro Alessio<sup>1</sup>, Adriana Hauser<sup>1</sup>, Fernando André Schmidt<sup>1</sup>, Ângela Pelizza<sup>1</sup>, Joana Gerent Voges<sup>1</sup>, Alexandre Süsenbach de Abreu<sup>2</sup>, Natália Luíza Machado Reche<sup>3</sup>, Daíse Werncke<sup>4</sup>, Vivian Fischer<sup>4</sup>, André Thaler Neto<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup>Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC), Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Departamento de Produção Animal e Alimentos, Lages, SC, Brasil, e-mail: luis.arruda@ifc.edu.br

<sup>2</sup>Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Curso de Medicina Veterinária, Tubarão, SC, Brasil

<sup>3</sup>Centro Universitário Barriga Verde (UNIBAVE), Curso de Engenharia Agronômica, Orleans, SC, Brasil

<sup>4</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Agronomia, Departamento de Ciência Animal, Porto Alegre, RS, Brasil.



## **VARIÁVEIS RELACIONADAS À BAIXA ACIDEZ TITULÁVEL EM LEITE DE VACAS INDIVIDUAIS E EM LEITE CONJUNTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS: ANÁLISE DE GRUPOS DE EXPERIMENTOS**

**RESUMO:** No Brasil estão normatizados os limites de 14 a 18° dornic (°D) para a característica física acidez titulável (AT) do leite. O leite cru apresenta acidez intrínseca de origem de alguns componentes naturais, não devendo ser confundida com a acidez oriunda do crescimento de bactérias. Considerando-se certa carência de pesquisas dos fatores condicionantes da baixa AT e suas relações com a composição do leite, objetivou-se caracterizar a baixa AT e investigar as principais variáveis na incidência desta não conformidade em amostras de leite individual de vacas e de leite conjunto de estabelecimentos rurais em banco de dados de experimentos realizados em unidades de pesquisa e estabelecimentos rurais nas mesorregiões Sul, Serrana e Oeste de Santa Catarina. No trabalho com amostras individuais foram utilizados dados de seis experimentos independentes, executados entre 2007 a 2015, totalizando 820 amostras. A pesquisa investigando o leite conjunto de estabelecimentos rurais foi realizada a partir de dados de cinco pesquisas, também independentes, conduzidas no período de 2010 a 2014, totalizando 1.689 estabelecimentos rurais. Todos os experimentos foram conduzidos por pesquisadores das três instituições de ensino e pesquisa envolvidas. Para fins de análises estatísticas, os valores da contagem de células somáticas e da contagem padrão em placas foram logaritimados na base 10. A variável AT foi transformada em variável binária, formando-se duas classes, considerando-se baixa AT quando  $<14^{\circ}\text{D}$  e AT normal quando  $\geq14^{\circ}\text{D}$ . Os dados foram avaliados por análise de agrupamento, técnica de análise multivariada, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey-Kramer na probabilidade de 5%, utilizando-se o pacote estatístico SAS® (SAS, 2002). Foi constatada baixa AT do leite em 6% das amostras de vacas individuais e em 4% das amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais. A baixa AT é uma alteração na qualidade do leite, em amostras individuais de leite de vacas e de tanques de resfriamento. Relaciona-se a elevada CCS e baixa concentração de lactose, sem relação com alterações nos demais componentes do leite. Amostras individuais de leite com baixa AT também estão relacionadas com a redução na concentração de nitrogênio ureico no leite e leite produzido por vacas com ordem de partos maiores.

**Palavras-chave:** Composição do leite. Legislação. Processamento do leite. Propriedades físicas do leite. Titulação dornic.

## **VARIABLES RELATED TO LOW TITRATABLE ACIDITY IN INDIVIDUAL COWS MILK AND MILK SET OF RURAL ESTABLISHMENTS: ANALYSIS OF EXPERIMENTAL GROUPS.**

**ABSTRACT:** In Brazil, limits from 14 to 18° Dornic (°D) are normalized for the physical characteristic of titratable acidity (TA) of milk. Fresh milk presents intrinsic acidity from some natural components and has no relation to the acidity original from the growth of bacteria. Considering the lack of research on the factors determining low TA and its relation with the milk composition, this study aimed to characterize low TA and to investigate the

main variables in the incidence of such non-compliance in samples of individual cow's milk and milk set within the database of experiments undertaken in units and rural establishments in the south, mountains and west region of Santa Catarina state, Brazil. In the research undertaken with individual samples, data from six independent experiments were used, they were carried out between 2007 and 2015 and amount a total of 820 samples. The research that investigated the milk set of rural establishments undertaken using data of five independent researches between the period of 2010 and 2014, numbering 1.689 rural establishments. All experiments were undertaken by researchers from three teaching and research institutions involved. For statistical analysis purposes, the somatic cell count and standard count in plates were logarithmized at base 10. The TA variable was transformed into binary variable, forming two classes, considering low TA when  $<14^{\circ}\text{D}$  and normal TA when  $\geq 14^{\circ}\text{D}$ . Data was analyzed by clusters, multivariate analysis technique and the averages compared by the Tukey-Kramer test in the probability of 5% by using the statistical method SAS® (SAS, 2002). Low TA was found in 6% of the milk from samples of individual cows and in 4% of samples from milk set of rural establishments. Low TA represents a change in the quality of milk in individual samples of cow milk and milk set of rural establishments. Elevated SCC is related to low concentration of lactose, but not to the changes of other components of milk. Individual samples of milk with low TA are also related to the reduction of the concentration of urea nitrogen in milk and in milk produced by cows with a higher calving order.

**Keywords:** Milk composition. Legislation. Milk processing. Physical properties of milk. Dornic titration.

## 1 INTRODUÇÃO

A adequada composição do leite cru refrigerado configura fator determinante da sua qualidade nutricional e sua maior adequação ao processamento industrial para o posterior consumo humano. Conforme a Instrução Normativa Nº62/2011 (IN62) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) faz-se necessário cumprir padrões de composição e propriedades físico-químicas da matéria-prima alimentar leite (BRASIL, 2011).

A qualidade do leite cru refrigerado não é apenas uma necessidade industrial ou vantagem competitiva, trata-se de questão legal, com forte implicação na saúde pública, além de ser condição principal na comercialização (RODRIGUES et al., 2013).

O leite, sob o aspecto nutricional, é considerado um dos alimentos mais equilibrados e completos, sendo consumido em todas as partes do mundo, na sua forma líquida, ou na forma de seus derivados (CALDEIRA et al., 2006). Entretanto, o leite de qualidade inadequada favorece alterações e, consequentemente, o descarte do produto, elevando os custos de produção primária e industrial (CALLEFE; LANGONI, 2015).

A acidez titulável (AT) é um importante indicador de qualidade do leite cru refrigerado, fornece informações relevantes para sua seleção e monitoramento. Características

físico-químicas como a AT têm destacada importância na produção de derivados lácteos, sendo empregada como importante parâmetro no diagnóstico de alterações no leite cru refrigerado, sendo então considerada como fator primordial na indústria do segmento lácteo (FORMAGGIONI et al., 2001).

O leite recém-ordenhado apresenta-se ligeiramente ácido. Esta acidez chamada de acidez natural tem origem de alguns de seus componentes naturais, como: citratos, dióxido de carbono, caseínas e fosfatos e proteínas (MAPA/SDA/CGAL, 2013; DRINC, 2015), gás carbônico dissolvido, albumina (BRITO et al., 2012) e ácidos formados da decomposição da lactose (ÓRDOÑEZ et al., 2005). Veloso (1998) detalha a participação em °D de alguns dos componentes formados na acidez natural do leite: caseínas (5 a 6°D), fosfatos (5°D), CO<sub>2</sub> (1°D), albumina (1°D) e citratos (1°D), computando-se, assim, a média de 13 a 14°D. Estudos de Walstra, Wouters e Geurts (1999) divulgam os componentes formados na acidez natural do leite: caseínas (5,7°D), proteínas séricas (0,9°D), fosfato inorgânico coloidal (1°D), fosfato inorgânico dissolvido (7,8°D), outros compostos (1,6°D), perfazendo a média de AT de 17°D.

Normalmente, o maior objetivo da avaliação da AT é o descarte de leite com elevada acidez, pois elevada AT normalmente está associada à alta concentração de ácido láctico que, por sua vez, resulta de elevada contaminação bacteriana do leite (alta contagem padrão em placas - CPP) a qual promove a metabolização de lactose a ácidos, dentre estes o láctico é o principal (HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; CALDEIRA et al., 2010).

A acidez natural no leite não deve ser confundida com a acidez que se forma através do crescimento de bactérias, conceituada como acidez verdadeira (BRITO et al., 2012). A acidez inicial de leites de vacas individuais varia no intervalo de 8 a 25°D. Já a AT do leite conjunto normalmente fica no intervalo de 14 a 16°D (McCARTHY; SINGH, 2009). No entanto, segundo Walstra, Wouters e Geurts (1999), a maioria das amostras de leite cru apresentam AT variando na escala de 14 a 21°D, com média de 17°D.

A acidez verdadeira resulta da atividade de bactérias produtoras de ácido láctico durante a coleta, transporte e processamento de leite (HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; BELOTI et al., 2015; GEA, 2015). A causa do ácido láctico alto seria o processo no qual as bactérias convertem a lactose do leite em ácido láctico. Portanto, alta AT resulta em alto teor de ácido láctico que, por sua vez, está relacionado a alta CPP. A lactose, carboidrato do leite, ao ser fermentada por ação de microrganismos forma ácidos orgânicos, em especial o ácido láctico, resultando na chamada acidez adquirida. A acidez adquirida em conjunto com a acidez natural forma a acidez verdadeira do leite (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 1999; HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; MAPA/SDA/CGAL, 2013).

Atualmente no Brasil estão normatizados os limites de 14 a 18ºD para a AT (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017). A acidez do leite é medida pelo método da AT, cujo fundamento consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando, como indicador, a fenolftaleína (BRASIL, 2006).

Entretanto, é necessário certo critério no julgamento da qualidade do leite, somente baseado neste ensaio (BRASIL, 2002; BRASIL, 2006). Historicamente, a acidez acima de 18ºD tem sido a principal causa de preocupação na cadeia produtiva do leite, por ser um indicador de problemas relacionados à higiene e conservação do leite. Entretanto, a baixa AT tem preocupado o sistema produtivo, por ser causa de descarte do leite nas plataformas de leite das indústrias, especialmente devido ao risco de ser consequência de fraudes.

Apesar do resultado da AT ser expresso em % em ácido láctico, não é somente a presença dele que determina a acidez. Dito isto, ao estimar o atributo AT no leite deve-se considerar alguns parâmetros. A avaliação da AT deve estar atrelada a alguns outros fatores, como as características de composição, da contagem de células somáticas (CCS) e das propriedades do leite (FORMAGGIONI et al., 2001; SUMMER et al., 2002). Além disso, algumas interações relacionadas às vacas podem implicar em variações na AT do leite cru, como as diferenças raciais, dos fatores fisiológicos (idade ou ordem de parto e estágio de lactação). Fatores ambientais (sazonalidade, temperatura e umidade) também têm sido demonstrados afetar a AT do leite cru (TYRISEVA et al., al 2004; MALACARNE et al., 2006). Desta forma, deve ser considerada a grande variação no nível de AT quando se analisa o leite individualmente de cada vaca. Estas variações individuais são diluídas no leite conjunto armazenado no tanque de resfriamento, sendo que o valor obtido para AT possa alterar-se aos níveis considerados normais (ZAFALON et al., 2005).

A contagem de células somáticas (CCS) é aceita mundialmente como indicador de saúde da glândula mamária, portanto, apresenta função importante como parâmetro avaliativo na qualidade do leite. Este aspecto reflete a íntima relação da CCS com alguns dos principais outros indicadores de qualidade do leite, sobretudo suas implicações com os teores de lactose, de cloreto e consequentemente da AT.

Alterações no percentual de proteína no leite conjunto no tanque de expansão ou de vaca individualmente podem ocorrer ao se manipular a dieta das vacas. Ferramentas como a avaliação do nitrogênio ureico no leite (NUL) podem ser de utilidade para se avaliar o manejo nutricional praticado nos estabelecimentos rurais. Este aspecto avalia o balanço fino das dietas consumidas pelas vacas (ROSA et al., 2012).

A prova do álcool avalia a estabilidade das proteínas lácteas submetidas à metodologia de desidratação, induzida pela solução de álcool sendo usada para estimar a estabilidade do leite (MARQUES et al., 2007). A prova de estabilidade no teste do álcool é realizada no leite conjunto dos estabelecimentos rurais antes da coleta do leite pelo captador/transportador. Na plataforma de recebimento das indústrias, ou seja, nos compartimentos isotérmicos dos caminhões tanque de primeiro transporte, é novamente realizada. Erroneamente, o leite instável na prova do álcool na concentração mínima legalizada (72°GL) vem sendo considerado como ácido, sendo este aspecto gerador de desacordos entre os laticínios e os produtores. Ocorre que, boa parcela das amostras de leite que apresenta resultado positivo, ou precipitação nesta prova, apresenta resultados normais de acidez nos testes que a avaliam diretamente (pH ou titulação) (RIBEIRO; SCHAFHÄUSER JUNIOR; ZANELA, 2009).

Segundo a legislação, o leite que precipita nesse teste não deve ser transportado para a indústria. Através da IN62, o MAPA (BRASIL, 2011) determina como critério de aceitação do leite pela indústria, a realização do teste do álcool na concentração mínima de 72°GL (Gay Lussac). No entanto, muitos processadores estejam utilizando, para a análise da estabilidade do leite ao etanol, álcool etílico em graduações mais elevadas. Esta metodologia vem sendo difundida no intuito em se captar leite de melhor qualidade ao processamento térmico e posterior beneficiamento, no viés de precaução quanto aos prováveis desajustes relativos aos possíveis fatores influenciadores da acidificação, e, consequente precipitação do leite quando em contato com a solução de álcool/alizarina (CIPRANDI; PEREIRA; PINTO, 2012).

Além do que foi abordado, evidencia-se a escassez de estudos relacionadas às condições de ocorrência de leite com baixa AT, dos fatores condicionantes e das suas relações com as alterações na composição e nas características originais do leite. Com base nisso, este estudo objetivou caracterizar a baixa AT e investigar as principais variáveis, suas implicações e relações com a incidência desta não conformidade em amostras de leite cru individual de vacas e leite conjunto de estabelecimentos rurais nas mesorregiões Oeste, Serrana e Sul do Estado de Santa Catarina.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido avaliando-se amostras de leite individuais de vacas e amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais.

No trabalho com amostras individuais foram utilizados dados de seis experimentos independentes, executados entre 2007 a 2015, nas regiões Sul e Planalto Serrano do Estado de

Santa Catarina, totalizando 820 amostras individuais de leite de vacas. As análises com dados individuais de vacas com restrição alimentar, comparações de grupamento genéticos e estresse térmico foram conduzidas com vacas das raças Holandesa e mestiças  $\frac{1}{2}$  Jersey x  $\frac{1}{2}$  Holandês, no setor de Bovinocultura de Leite da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, em Lages, SC, localizado às coordenadas  $27^{\circ}47'06"S$  e  $50^{\circ}18'16"W$ . Já o experimento com suplementação de vacas da raça Jersey foi conduzido em um estabelecimento rural particular no município de Orleans ( $28^{\circ}21'48"S$  e  $49^{\circ}13'48"W$ ).

A pesquisa investigando o leite conjunto de estabelecimentos rurais foi realizada a partir de dados de cinco pesquisas, também independentes, conduzidas no período de 2010 a 2014, sendo os rebanhos das regiões Sul, Planalto Serrano e Oeste Catarinense, totalizando 1.689 tanques. Os estabelecimentos rurais disponibilizavam sistema de refrigeração do leite por tanque de expansão direta.

Todos os experimentos foram conduzidos por pesquisadores do Centro de Ciencias Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), sendo aprovados nos respectivos comitês de ética em pesquisa das respectivas universidades.

Estes experimentos foram selecionados ao estudo por utilizarem as mesmas metodologias de análise e prover bancos de dados com as mesmas variáveis.

As amostras de leite cru foram submetidas à análise de composição por metodologia infravermelha, CCS por citometria de fluxo, percentual de NUL por metodologia empregando espectrofotometria no infravermelho por FTIR (*Fourier Transform Infrared*). No estudo envolvendo leite conjunto de tanques de resfriamento, avaliou-se, além da CCS, também a CPP, por metodologia de citometria de fluxo. As análises de composição, da CCS, do NUL e da qualidade microbiológica (CPP) do leite foram realizadas em laboratórios da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL). Nos laboratórios internos, das instituições de pesquisa e ensino envolvidas nos estudos, foram realizados os ensaios de teste de estabilidade da caseína na presença de álcool etílico, sendo empregada a técnica com concentrações crescentes de álcool, partindo-se da graduação de  $60^{\circ}GL$  (Gay Lussac), na avaliação das amostras individuais de vacas e, na graduação inicial de  $64^{\circ}GL$ , para a avaliação das amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais, com intervalos crescentes de  $2^{\circ}GL$  até o momento em que a análise indique como resultado positivo a menor concentração alcoólica a qual se visualizou a precipitação do leite.

A avaliação da acidez titulável (AT) foi realizada de acordo com a metodologia analítica recomendada pela IN68 do MAPA (BRASIL, 2006), utilizando-se o método B. No teste da AT, uma substância básica muito forte (isto é, alcalina), o NaOH (hidróxido de sódio) é usada para neutralizar os compostos ácidos do leite. Uma substância indicadora (fenolftaleína) é usada para mostrar a quantidade do álcali que foi necessária para neutralizar o ácido do leite. O indicador permanece incolor quando misturado com uma substância ácida, mas adquire coloração rosa em meio alcalino. Portanto, o álcali (NaOH N/9) é adicionado ao leite até que adquira a coloração rósea. Cada 0,1ml da solução de NaOH N/9 gasto no teste corresponde a 1°D ou 0,1g de ácido láctico/litro (BRASIL, 2006; BRITO et al., 2012). Os resultados foram comparados aos valores estabelecidos na IN62 (BRASIL, 2011) e no Decreto Nº 9.013 (BRASIL, 2017).

Para fins de análises estatísticas, o estudo das variáveis relacionadas à baixa AT, tanto para as amostras de leite individual de vacas, quanto para às amostras de leite conjunto de estabelecimento rurais, a variável AT foi transformada em variável binária, formando-se duas classes. Na formação destas classes se considerou como baixa AT as amostras de leite que apresentaram AT <14°D e, considerou-se AT normal quando o resultado na amostra de leite foi  $\geq 14^{\circ}\text{D}$ . Também se padronizou os valores de P, sendo considerados como P <0,05 significativamente diferentes e valores de P entre 0,05 e 0,10 foram considerados como tendência.

No estudo utilizando o banco de dados de vacas individuais, as variáveis consideradas para a análise multivariada foram as informações zootécnicas das vacas, sendo avaliadas a ordem de parto (agrupadas como 1, 2 e 3 ou mais partos), número de dias em lactação (DEL), classes da titulação, prova da titulação em °D, teste da estabilidade das caseínas na presença de álcool etílico, produção de leite (kg/dia), teores de gordura, de proteína e de lactose (%), a concentração de NUL (mg/dL), bem como a determinação da CCS, expressa em células/mL x 1.000, a qual foi transformada em logaritmo de base 10 ( $\log_{10}$ ), visando-se obter maior normalidade dos dados.

No trabalho com amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais as variáveis utilizadas para a análise multivariada foram: região do Estado de Santa Catarina (1 = Planalto e Oeste, 2 = Sul), teste do álcool (%), classes da titulação (0 = AT <14°D e 1 = AT  $\geq 14^{\circ}\text{D}$ ), teores de gordura, proteína e lactose (%), bem como a CCS e CPP, expressas em células/ml e UFC/ml x 1.000, respectivamente, sendo transformadas em logaritmo de base 10 ( $\log_{10}$ ), visando-se a obtenção de maior normalidade dos dados.

Os dados foram avaliados através da técnica de análise multivariada, análise de agrupamento, utilizando-se o pacote estatístico SAS® (SAS, 2002), sendo previamente padronizados pelo procedimento STANDARD para a posterior realização das análises multivariadas. A análise de agrupamento foi realizada pelo procedimento FASTCLUS, visando a formação de grupos que apresentam características similares dentro do grupo e diferenças entre os grupos, utilizando o método hierárquico de Ward, baseado na distância euclidiana, no intuito de se estimar as médias padronizadas dos grupos, sendo posteriormente transformadas nas médias originais para cada grupo. Na sequência foi realizada a análise discriminante, pelo procedimento DISCRIM, com a finalidade de classificar as observações corretamente dentro de cada grupo. Também se realizou a análise discriminante canônica, nas amostras de leite individual de vacas (procedimento SCANDIS), para demonstrar de forma gráfica as distâncias entre e dentro dos grupos formados. Em ambas as análises, ou seja, de amostras de leite individual de vacas e também de leite conjunto dos estabelecimentos rurais seguiu-se pelo procedimento STEPDISC, utilizando o método STEPWISE no viés da seleção das variáveis responsáveis pela diferenciação dos grupos, considerando as variáveis que apresentaram  $P < 0,0001$ , sendo que o coeficiente de determinação parcial ( $R^2$ ) explica a representatividade de cada variável na diferenciação dos grupos.

As pressuposições de normalidade e homogeneidade da matriz de covariância não foram atendidas por nenhuma das variáveis estudadas. Em função disso, proporções consideráveis das observações foram distribuídas incorretamente dentro dos seus respectivos grupos. Sendo assim, optou-se por utilizar a análise discriminante não paramétrica pelo método NPAR, através do algoritmo do vizinho mais próximo (KNN), o qual classificou corretamente todas as observações dentro dos grupos.

Por fim, para realizar a comparação das médias dos grupos formados pela análise de agrupamento, foram testadas as pressuposições de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e de homogeneidade de variâncias (teste de Levene). A maioria das variáveis testadas apresentaram  $P > 0,0001$  para os testes de Shapiro-Wilk e Levene, sendo que pelo menos uma das pressuposições não foi atendida por todas as variáveis, indicando assim a falta de normalidade e homogeneidade de variâncias. Diante disto, optou-se pela análise de variância utilizando o procedimento GLIMMIX, a qual considera o tipo de distribuição da variável resposta para a comparação de médias e utiliza o procedimento LSMEANS, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey-Kamer, considerando a probabilidade de 5%. A distribuição utilizada foi normal identidade para todas as variáveis analisadas, na qual a função de ligação identidade faz a conexão entre a média das observações com a parte sistemática.

Os fatores apresentados nos resultados representam a dimensão em que as variáveis se encontram. Nos fatores encontram-se as relações positivas ou contrárias entre as variáveis utilizadas nas análises, sendo considerado como valor mínimo de 0,4 na configuração da existência da relação entre os fatores. Já as comunalidades demonstram a relevância de cada variável no estudo.

Outros aspectos relativos ao maior detalhamento, de algum ponto específico a ser mais bem explorado pelo leitor, referindo-se ao âmbito da metodologia e materiais utilizados neste estudo, estão apresentados na etapa 4, do ítem 4 (Material e métodos – Geral).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aproximadamente 6% das amostras de leite de vacas individuais apresentaram baixa acidez titulável (AT), valor médio de 0,94 para a variável binária que considerou as classes valor 0 para as amostras com baixa AT ( $<14^{\circ}\text{D}$ ) e 1 para AT normal ( $\geq14^{\circ}\text{D}$ ) (Tabela 1). Das 820 amostras de leite individuais avaliadas, o valor médio da AT foi de  $16,53^{\circ}\text{D}$ , com AT mínima e máxima variando entre  $10^{\circ}\text{D}$  a  $22^{\circ}\text{D}$ , respectivamente. Cerca de 4% das 1.689 amostras analisadas de leite conjunto dos estabelecimentos rurais apresentaram AT  $\geq14^{\circ}\text{D}$ , com valor médio da AT de  $15,94^{\circ}\text{D}$ , mínima AT de  $11^{\circ}\text{D}$  e máxima AT de  $18^{\circ}\text{D}$  (Tabela 4).

A elevada variabilidade no teste do álcool evidencia a existência de amostras com valores em desacordo com o estabelecido (Tabela 1). Em média, as amostras apresentaram instabilidade, ou coagulação com formação de grumos, na graduação alcoólica de 73,60%. O alto desvio padrão de aproximadamente 432 mil cel./mL de leite, para a CCS, remete ao fato de não conformidade em considerável parcela das amostras (Tabela 1).

Os componentes do leite sofrem alterações pela dieta fornecida aos animais, assim como também se modificam por fatores não nutricionais, influenciando no padrão desejável dos constituintes do leite (ANDRADE et al., 2014). Os teores médios ideais de nitrogênio ureico para produção de leite de qualidade devem estar entre 11-16mg/dL de leite (CAMPOS, 2002). A análise das amostras individuais indicou valores médios de amostras com NUL na faixa da normalidade padrão, ou seja de 11 a 16mg/dL. Porém, nas 820 amostras avaliadas a amplitude de variação para o componente NUL foi elevada, com valores mínimo e máximo de 1,53 e 26,67mg/dL respectivamente, isto é, diferença exacerbada de 25,14mg/dL, além do considerável desvio padrão de 4,69mg/dL (Tabela 1). Verifica-se teores de proteína no leite amostrado na amplitude de 2,47 a 4,33%, com media de 3,28%. Algumas pesquisas evidenciam o fato de que os altos níveis de proteínas totais do leite são oriundos do aumento

de proteínas de origem não caséicas, enquanto que as caseínas reduzem levemente (POLITIS; NG-KWAI-HANG, 1988). Algumas pesquisas, mesmo para *score* de CCS semelhantes, apresentam certa contradição. Ma et al. (2000) observaram aumento, enquanto Mazal et al., (2007) descrevem decréscimo da proteína verdadeiras do leite. No entanto, ambas as pesquisas relatam redução do teor de caseína.

Tabela 1 – Estatística descritiva da base de dados dos experimentos com dados zootécnicos, análises do teste de estabilidade do leite ao teste do álcool, acidez titulável, classes de acidez titulável, da produção, composição, células somáticas, do nitrogênio ureico e extrato seco desengordurado do leite de amostras de leite individual de vacas.

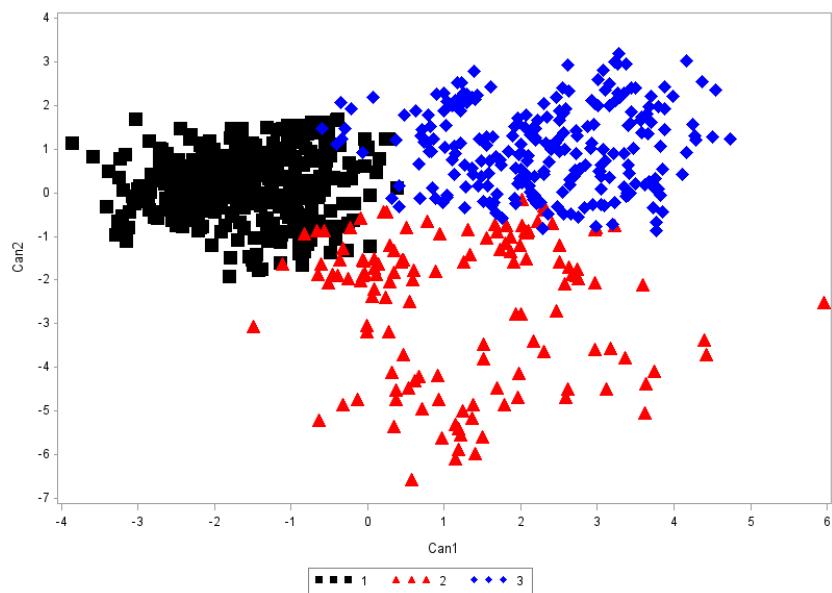
VARIÁVEIS	N	MÍNIMO	MÉDIA	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Ordem de parto	820	1,00	2,00	3,00	0,90
Dias em lactação (dias)	820	4,00	87,59	204,00	63,59
Teste álcool (°GL)	820	60,00	73,60	82,00	4,83
Acidez titulável do leite (°D)	820	10,00	16,53	22,00	1,96
Classes de acidez titulável	820	0,00	0,94	1,00	0,24
Produção de leite (kg/dia)	820	8,00	22,34	49,49	8,12
Gordura (%)	820	2,24	4,08	7,37	0,75
Proteína (%)	818	2,47	3,28	4,33	0,35
Lactose (%)	820	3,08	4,50	4,98	0,27
NUL (mg/dL)	820	1,53	13,33	26,67	4,69
Extrato seco desengordurado (%)	820	7,09	8,75	9,95	0,42
CCS (células/mL x 1.000)	820	4,00	221,73	3.879,16	432,95
CCS ( $\log_{10}$ )	820	3,60	4,96	6,59	0,54

Classes de acidez titulável: 0 = acidez titulável  $<14^{\circ}\text{D}$ , 1 = acidez titulável  $\geq 14^{\circ}\text{D}$ ; NUL = nitrogênio ureico do leite; CCS = contagem de células somáticas.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A análise de agrupamento a partir do banco de dados de amostras individuais de vacas formou três grupos, os quais foram diferenciados pela análise canônica, que tem a finalidade de demonstrar graficamente as distâncias euclidianas utilizadas na separação entre e dentro dos grupos (Figura 1).

Figura 1 – Análise canônica demonstrando as distâncias euclidianas, entre e dentro dos grupos, formados pelas variáveis que representam as classes de acidez titulável do leite de amostras de leite individual de vacas. Grupo 1 (■), grupo 2 (▲) e grupo 3 (◆).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Na sequência foi realizada a análise STEPDISC, pelo método STEPWISE, a qual é responsável por selecionar as variáveis que compuseram o modelo final (composto por variáveis com  $P < 0,0001$ ), sendo determinantes na diferenciação dos grupos (Tabela 2).

Os grupos foram diferenciados pelas variáveis dias em lactação, teor de proteína, classes de AT, teste do álcool, teor de lactose, teor de gordura, produção de leite, ordem de parto, CCS e NUL. Todas as variáveis determinantes foram consideradas, sendo que o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) parcial explica a representatividade de cada variável na diferenciação dos grupos, sendo que, 62,0% da distância entre os grupos é explicada pelos dias em lactação.

Na análise discriminante (Tabela 2), por meio do procedimento STEPDISC foram incluídas no modelo final ( $P < 0,0001$ ) somente as variáveis importantes para a diferenciação dos grupos dos estabelecimentos rurais, ou seja: DEL, teor de proteína, classes de AT, CCS, teor de gordura, ordem de parto, produção de leite, instabilidade ao teste do álcool, teor de lactose e NUL.

Tabela 2 – Análise STEPDISC das variáveis determinantes para a diferenciação dos grupos e seus respectivos parâmetros estatísticos para as variáveis que representam as classes de acidez titulável do leite de amostras de leite individual de vacas.

VARIÁVEIS	R <sup>2</sup> PARCIAL	F	P > F	WILKS LAMBDA	P < LAMBDA	ASCC	P > ASCC
Dias em lactação (dias)	0,620	667,22	<0,0001	0,380	<0,0001	0,310	<0,0001
Proteína (%)	0,360	229,37	<0,0001	0,243	<0,0001	0,454	<0,0001
Classes de acidez titulável	0,329	199,50	<0,0001	0,163	<0,0001	0,582	<0,0001
CCS (log <sub>10</sub> )	0,052	21,95	<0,0001	0,098	<0,0001	0,675	<0,0001
Gordura (%)	0,100	45,17	<0,0001	0,118	<0,0001	0,644	<0,0001
Ordem de parto	0,055	23,59	<0,0001	0,103	<0,0001	0,669	<0,0001
Produção de leite (kg/dia)	0,074	32,15	<0,0001	0,109	<0,0001	0,657	<0,0001
Teste álcool (°GL)	0,109	49,55	<0,0001	0,145	<0,0001	0,606	<0,0001
Lactose (%)	0,102	46,00	<0,0001	0,131	<0,0001	0,626	<0,0001
NUL (mg / dL)	0,010	3,96	=0,0193	0,097	<0,0001	0,676	<0,0001

ASCC: Average Squared Canonical Correlation; Classes de acidez titulável: 0 = acidez titulável <14°D, 1 = acidez titulável ≥14°D; CCS = contagem de células somáticas.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A análise de agrupamento formou três grupos (Tabela 3), os quais diferiram para todas as variáveis. O grupo 2 diferiu do grupo 1 e 3 por apresentar a menor AT, sendo que todas as amostras com baixa AT encontram-se neste grupo, bem como menores teores de lactose, gordura, proteína e estabilidade ao teste do álcool, e com maior ordem de parto. Os valores de NUL foram menores e de CCS mais elevados em relação ao grupo 1, porém similares ao grupo 3. Os grupos 1 e 3 são formados por amostras com AT normal, não diferindo para ordem de parto, sendo o grupo 3 caracterizado por vacas com menor produção de leite, com maiores teores de gordura e de proteína, justificado pelo DEL avançado, bem como menor NUL e CCS elevada. No grupo 1 tem-se as vacas com menores DEL e CCS, com maior estabilidade ao teste do álcool, teor de lactose, NUL e produção de leite, sendo em função dessa última variável, menores teores de gordura e proteína no leite.

Tabela 3 – Agrupamentos formados pelas variáveis referentes as classes de acidez titulável de amostras de leite individual de vacas.

VARIÁVEIS	GRUPOS*			P
	1	2	3	
Ordem de parto	1,90 b	<b>2,45 a</b>	1,91 b	<0,0001
Dias em lactação (dias)	42,51 c	117,56 b	152,63 a	<0,0001
Teste álcool (°GL)	75,38 a	<b>69,68 c</b>	72,51 b	<0,0001
Classes de acidez titulável	1,00 a	<b>0,61 b</b>	1,00 a	<0,0001
Produção leite (Kg/dia)	27,27 a	17,60 b	16,02 c	<0,0001
Gordura (%)	3,87 b	<b>3,69 c</b>	4,68 a	<0,0001
Proteína (%)	3,17 b	<b>3,01 c</b>	3,61 a	<0,0001
Lactose (%)	4,63 a	<b>4,26 c</b>	4,39 b	<0,0001
NUL (mg/dL)	14,62 a	<b>11,28 b</b>	12,11b	<0,0001
CCS ( $\log_{10}$ )	4,81 b	<b>5,19 a</b>	5,12 a	<0,0001
<b>NÚMERO DE OBSERVAÇÕES</b>	442	133	245	

\* Grupos formados pela análise de agrupamento: Classes de acidez titulável: 0 = acidez titulável <14°D, 1 = acidez titulável ≥14°D; NUL = nitrogênio ureico do leite; CCS = contagem de células somáticas.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Uma das causas com impacto prejudicial sobre a composição e características físico-químicas do leite é a mastite. Trata-se de uma patologia que afeta a saúde da glândula mamária, exercendo influência prejudicial no leite, consequente à elevação na CCS (HARDING, 1995; LARANJA, 1998; BARROS, 2011). A elevação da CCS influencia a composição do leite e, por conseguinte a qualidade dos seus derivados (KITCHEN, 1981; HARDING, 1995; LARANJA, 1998), refletindo em alterações nos processos tecnológicos do leite (HARDING, 1995; RIBEIRO JUNIOR et al., 2015; MATTIELLO et al., 2018 – no prelo). Algumas das alterações das características físico-químicas e da composição do leite, reflexos da alta CCS, incluem aumento dos íons sódio, cloro, pH (BARROS, 2011), imunoglobulinas e outras proteínas séricas (KITCHEN, 1981), redução dos teores de caseína, gordura (GONZALEZ et al., 2011; BARROS, 2011) lactose (BARROS, 2011; ALESSIO et al., 2016) potássio, cálcio, fósforo e AT do leite (RODRIGUES; FONSECA; SOUZA, 1995).

A relação negativa entre a CCS, a AT e os teores de lactose (Tabela 3 – Grupo 2), pode ser explicada devido a maior permeabilidade vascular, oriunda das injúrias da reação inflamatória nas células especializadas da glândula mamária (MATIOLI et al., 2000; PESSOA et al., 2012), o que acarreta na saída de lactose da luz da glândula mamária para a corrente sanguínea (BENCHEDLY et al., 2009), devido à diminuição da coesão entre as junções firmes das células secretoras (STUMPF et al., 2013). Desta forma, as alterações na composição do leite o tornam mais semelhante à composição do sangue (RODRIGUES; FONSECA; SOUZA, 1995). A relação entre elevada CCS e baixa AT concorda com as

informações descritas por vários autores de que a mastite, mesmo na forma subclínica, reduz a AT do leite (GRANDISSON; FORD, 1986; MATIOLI et al., 2000; BRITO et al., 2012; DRINC, 2015). Estudos sobre os efeitos da CCS na composição do leite são divergentes, possivelmente devido ao fator CCS não ser facilmente isolado dos demais fatores intrínsecos e extrínsecos de variabilidade da composição do leite, (VIANNA et al., 2008).

Estudo conduzido por Teixeira, Freitas e Barra (2003) descreve a média de produção de leite aumentando com o aumento da idade ao parto, decrescendo com vacas parindo a partir de 5,5 a 6 anos. Já os teores de gordura e proteína permaneceram relativamente constantes com o aumento da idade ao parto. Entretanto, Noro et al. (2006) relatam que a idade ao parto afeta o teor de proteína do leite, com maior teor nas vacas com partos de 33 a 45 meses de idade e menor nas vacas de primeiro parto. O teor de gordura do leite apresentou valores mais baixos nas vacas com menor idade ao parto, e, de modo oposto, maior teor nos animais com idade ao parto acima de 7 anos, sendo que, o teor da lactose reduz a medida que avança a idade da vaca (NORO et al., 2006). No presente estudo, os valores discordam destes autores, com exceção ao efeito da maior ordem de parto sobre o teor de gordura, observado nas amostras de leite avaliadas das vacas com maior ordem de parto (Tabela 3). Quanto a titulação do leite, o agrupamento 2 (Tabela 3) destaca as amostras de leite daquelas vacas com maior ordem de parto como sendo as que apresentam menor AT.

Quanto mais se estende o período da lactação, mais elevados são os teores de gordura no leite (AGANGA; AMARTEIFIO; NKILE, 2002; NORO et al., 2006). Para Birgel (2006), os valores de gordura, proteína e lactose são menores durante os três primeiros meses de lactação. Dukes (1993) descreve que conforme o estágio de lactação evolui ocorre incremento nos teores de gordura, proteína e lactose do leite. Isto significa que a curva de produção de gordura é inversamente proporcional à produção de leite. Enquanto a produção de leite aumenta até o pico de lactação, próximo ao pico, o teor de gordura atinge valores mínimos (BEHMER, 1987). Quanto a variável DEL, verifica-se nos agrupamentos formados que os teores aferidos concordam com os autores (Tabela 3), sendo que no agrupamento 2 os dados demonstram que as vacas com lactação intermediária apresentaram menor AT do leite.

Problemas relacionados à estabilidade do leite ao teste do álcool foram, por muito tempo, ignorados ou confundidos com os relacionados à acidez elevada (RIBEIRO et al., 2011), causada pela fermentação da lactose por microrganismos incorporados ao leite (SILVA et al., 2012). No entanto, há casos onde o leite apresenta instabilidade ao teste do álcool, porém com valores de AT e pH em valores aceitáveis (pH de 6,6 a 6,8 e AT  $\leq 18^{\circ}\text{D}$ ). Esse quadro é denominado de leite instável não ácido (LINA), sendo reportado especialmente em

situações de restrição alimentar (ZANELLA et al., 2006; STUMPF et al., 2013). A ocorrência de LINA recebe grande atenção, pois ao precipitar assim como o leite ácido no teste do álcool/alizarol, o leite é considerado como inadequado, sendo assim condenando e ainda no estabelecimento rural (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017).

Nas análises de agrupamento, as amostras de leite individual do grupo 1 (Tabela 3), foram as que apresentaram maior estabilidade do leite frente ao teste do álcool (75,38 °GL) ( $P < 0,0001$ ), maior produção, maior teor de lactose e maior NUL, menores CCS, DEL e teor mediano para proteína. As relações observadas entre estas variáveis vislumbram melhores condições, ou, mais adequadas, dos padrões zootécnicos, de manejo e da alimentação fornecida às vacas. Menores valores para resistência ao teste do álcool no grupo 2 (Tabela 3), onde se encontram os dados com baixa AT, indicam que a baixa AT e desordem Leite Instável não Ácido (LINA) podem ter causas comuns.

As amostras de leite de vacas individuais do grupo 2 (Tabela 3) apresentaram menor teor de proteína. Leite com esta condição apresenta menor teor de caseína, aspecto que pode estar associado com carência alimentar e, ou, dieta deficitária (OLIVEIRA et al., 2007).

Devido às altas CCS ocorre aumento na permeabilidade nos ácinos glandulares. Este aspecto faz com que as proteínas solúveis migrem mais facilmente do sangue para o leite, provocando redução da secreção de caseína. Estas ocorrências provocam alterações no teor proteico do leite; as proteínas totais podem sofrer inalterações, e ou, leve variação (TOMAZI et al., 2015). Os valores da concentração protéicas em leite com aumento da CCS são discordantes em vários estudos. Ma et al. (2000), Fernandes, Oliveira e Lima (2007) e Mazal et al. (2007) descrevem aumento da concentração de proteína total do leite com o aumento da CCS variando de 45.000 a 850.000 cél/ml. No entanto, para esta mesma escala de CCS, Vianna et al. (2008), não observaram variação significativa nos teores de proteína.

A produção intermediária de leite/vaca/dia, com menores teores de gordura, proteína e lactose e menor estabilidade do leite ao teste do álcool (Tabela 3 – grupo 2) pode estar relacionado com aporte nutricional deficiente. Ao suprir as demandas nutricionais, obtém-se maior produção de leite/vaca/dia, sendo atendidas a disponibilidade de nutrientes à produção de leite. No mesmo sentido ocorre com a estabilidade do leite, ou seja, quanto mais adequado o balanço nutricional, em especial o energético, maior será a estabilidade do leite ao teste do álcool. Em um estudo realizado no Chile, Barchiesi-Ferrari, Williams Salinas e Salvo-Garrido (2007) observaram produção de leite com baixa estabilidade como sendo proveniente de estabelecimentos rurais com inadequada alimentação aos animais, tanto em qualidade, quanto em quantidade. Outros pesquisadores já divulgaram certa relação positiva entre a nutrição

melhor manejada com a estabilidade do leite ao teste do álcool (ZANELA et al., 2006; MARQUES et al., 2010; STUMPF et al., 2013; GABBI et al., 2013).

Ao avaliar os níveis do NUL nas amostras individuais do agrupamento 2 (Tabela 3), verifica-se a proximidade destes ao mínimo de 11 mg/dL. Os valores apresentados nas tabelas 1 e 3 são indicativos da tendência da existência de estabelecimentos rurais que apresentam redução no teor de proteína do leite decorrente das condições nutricionais deficientes. Os estabelecimentos rurais que mantêm dieta fornecida aos animais balanceada, com volumoso, concentrado e energia em proporções ajustadas permitem que os índices de NUL mantenham-se adequados (ROSA et al., 2012).

Nas amostras de leite de tanques de resfriamento as variáveis avaliadas foram região de amostragem, testes de estabilidade da caseína na presença do álcool etílico, acidez titulável do leite, classes de AT, teores de gordura, proteína e lactose, CCS e CPP. As regiões de estudo Planalto Serrano e Oeste catarinense foram agrupadas como região 1, e as amostras de leite da região Sul do Estado de Santa Catarina agrupadas como região 2. O banco de dados foi composto por aproximadamente 50% de dados de cada região (Tabela 4). Na região Sul de Santa Catarina predominam rebanhos da raça Jersey, sendo que as amostras de leite advindas desta região apresentam maiores teores de gordura e proteína.

Aproximadamente 4% das amostras apresentaram baixa AT, representado pela média 0,96 na escala em que baixa AT foi classificada como 0 e AT normal como 1 (Tabela 4). Em média, as amostras apresentaram instabilidade na graduação alcoólica de 75,33%, com  $\pm$  desvio-padrão de 4,13% (Tabela 4). Os altos teores de gordura evidenciam o aspecto da participação dos rebanhos da raça Jersey na região Sul do Brasil, com estabelecimentos rurais indicando valores médios nas amostras de 4,08%. Os altos valores médios (551,94 e 451,93), para as variáveis CCS e CPP, respectivamente, com desvios padrão de 354,97 mil células/mL e 818,65 UFC/mL x 1.000, respectivamente, indicam condições inadequadas ao se avaliar a saúde da glândula mamária (CCS) e qualidade microbiológica (CPP), em considerável parcela das amostras (Tabela 4).

Tabela 4 - Estatística descritiva da base de dados dos experimentos, com dados da região pesquisada e análises do teste de estabilidade do leite ao teste do álcool, da acidez titulável, das classes da acidez titulável, composição, contagem de células somáticas e da contagem padrão em placas de amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais.

VARIÁVEIS	N	MÍNIMO	MÉDIA	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Região	1689	1,00	1,52	2,00	0,50
Teste álcool (°GL)	1689	64,00	75,33	82,00	4,13
Acidez titulável do leite (°D)	1.689	11,00	15,94	18,00	1,27
Classes de acidez titulável	1689	0,00	0,96	1,00	0,20
Gordura (%)	1689	2,57	4,08	5,09	0,43
Proteína (%)	1689	2,61	3,40	4,16	0,26
Lactose (%)	1688	3,62	4,43	4,94	0,15
CCS (células/mL x 1.000)	1.689	1,40	551,94	2.781,00	354,97
CCS (log <sub>10</sub> )	1.689	3,00	5,12	6,77	0,74
CPP (UFC/mL x 1.000)	1.689	100,00	451,93	5.898,00	818,65
CPP (log <sub>10</sub> )	1.689	4,15	5,66	6,44	0,29

Região: Planalto Serrano e Oeste catarinense = região 1, Sul catarinense = região 2; Classes de acidez titulável: 0 = acidez titulável <14°D, 1 = acidez titulável ≥14°D; CCS = contagem de células somáticas; CPP = contagem padrão em placas.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Na sequência foi realizada a análise STEPDISC, pelo método STEPWISE, a qual é responsável por selecionar as variáveis que compuseram o modelo final ( $P < 0,0001$ ) e foram determinantes na diferenciação dos grupos (Tabela 5). Os grupos foram diferenciados pelas variáveis classe de AT, região de amostragem do leite, teores de gordura e proteína, teste do álcool, CPP, CCS e teor de lactose. Todas as variáveis determinantes foram consideradas, sendo que o coeficiente de determinação parcial ( $R^2$ ) explica o quanto cada variável representa na diferenciação dos grupos, assim 64,6 % da distância entre os grupos é explicada pela região, direcionando a discussão para as variáveis em função do grau de importância de cada variável de acordo com  $R^2$  parcial (Tabela 5).

Tabela 5 – Análise STEPDISC das variáveis determinantes para a diferenciação dos grupos e seus respectivos parâmetros estatísticos para as variáveis que representam as classes de acidez titulável do leite de amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais.

VARIÁVEIS	R <sup>2</sup> PARCIAL	F	P>F	WILKS LAMBDA	P<LAMBDA	ASCC	P>ASCC
Classes de acidez titulável	1,000	--	<0,0001	0,000	<0,0001	0,500	<0,0001
Região	0,646	3077,86	<0,0001	0,000	<0,0001	0,823	<0,0001
Gordura (%)	0,259	588,67	<0,0001	0,000	<0,0001	0,869	<0,0001
Proteína (%)	0,100	186,59	<0,0001	0,000	<0,0001	0,882	<0,0001
Teste álcool (°GL)	0,014	23,66	<0,0001	0,000	<0,0001	0,884	<0,0001
CPP (log <sub>10</sub> )	0,009	14,47	=0,0001	0,000	<0,0001	0,885	<0,0001
CCS (log <sub>10</sub> )	0,107	108,3	<0,0001	0,118	<0,0001	0,629	<0,0001
Lactose (%)	0,006	10,24	=0,0014	0,000	<0,0001	0,885	<0,0001

ASCC: Average Squared Canonical Correlation; Região: 1 = Planalto Serrano e Oeste catarinense, 2 = Sul catarinense; Classes de acidez titulável: 0 = acidez titulável <14°D, 1 = acidez titulável ≥14°D.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A análise de agrupamento formou três grupos (Tabela 6), sendo que houve diferença para todas as variáveis utilizadas ( $P <0,0001$ ). O grupo 3 foi constituído pelo leite produzido na região Sul catarinense, sendo que o grupo 2 é composto pelo leite amostrado de todas as regiões, enquanto que o grupo 1 é formado pelas amostras de leite principalmente das regiões do Planalto e Oeste do Estado de Santa Catarina. A procedência das amostras contribui para explicar as características da composição do leite, pois permite identificar a constituição genética dos rebanhos e as condições climáticas das regiões em estudo. Logo, o grupo 3 comprehende as amostras de leite com maiores teores de gordura e proteína, o que pode ser explicado pelo predomínio de rebanhos da raça Jersey na região Sul catarinense, enquanto nas mesorregiões do Planalto Serrano e Oeste de Santa Catarina predominam a raça Holandês.

O grupo 2 (Tabela 6) é constituído exclusivamente por amostras com baixa AT. Este agrupamento se destaca pelos baixos teores de lactose, com forte tendência de elevada CCS. Quanto aos teores de lactose o grupo 1 possui os maiores teores, seguido dos grupos 3 e 2, respectivamente, sendo que a forte tendência no aumento de CCS ( $P =0,0056$ ) no grupo 2 reduz o teor de lactose e a AT. O teste do álcool é maior para os grupos 1 e 2 e menor no grupo 3. A CPP não apresentou diferença significativa estatisticamente ( $P =0,1102$ ) entre os agrupamentos formados, porém observa-se que os valores médios são altos.

Tabela 6 – Agrupamentos formados pelas variáveis referentes as classes de acidez titulável de amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais.

VARIÁVEIS	GRUPOS*			P
	1	2	3	
Região	1,07 c	1,48 b	1,90 a	<0,0001
Teste álcool (°GL)	76,12 a	75,70 a	74,64 b	<0,0001
Classes de acidez titulável	1,00 a	<b>0,00 b</b>	1,00 a	<0,0001
Gordura (%)	3,80 b	3,87 b	4,33 a	<0,0001
Proteína (%)	3,22 b	3,21 b	3,57 a	<0,0001
Lactose (%)	4,47 a	<b>4,31 c</b>	4,40 b	<0,0001
CCS ( $\log_{10}$ )	5,15 b	<b>5,25 a</b>	5,09 b	=0,0056
CPP ( $\log_{10}$ )	5,64	5,75	5,66	=0,1102
<b>NÚMERO DE OBSERVAÇÕES</b>	744	67	878	

\* Grupos formados: Região: 1 = Planalto Serrano e Oeste, 2 = Sul; Classes de acidez titulável: 0 = acidez titulável <14°D, 1 = acidez titulável ≥14°D; CCS = contagem de células somáticas; CPP = contagem padrão em placas.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A mastite subclínica, caracterizada pela alta CCS, normalmente não gera maiores alterações do teor de proteína total, mas, comumente o teor de caseínas será reduzido (FREITAS, 2007; SABEDOT et al., 2014), assim como o teor de lactose (CARVALHO, 2002; SABEDOT et al., 2014). Com isso, ocorre redução do rendimento industrial, razão pela qual as indústrias processadoras priorizam leite com baixas CCS (SABEDOT et al., 2014).

Houve redução nos teores médios de lactose devido à elevada CCS, especialmente nas amostras de leite individual (grupo 2 - Tabela 3) e, parcialmente nas amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais avaliados (grupo 2 - Tabela 6), estando, em ambas análises relacionado a uma maior percentagem de amostras com baixa AT. Este resultado pode ser atribuído a fatores como mudanças na homeostase da glândula mamária, aumento na concentração plasmática de lactose e lesões teciduais da mastite, reduzindo a síntese de lactose (RIBAS et al., 2015). Uma das principais alterações na composição do leite provocadas pela alta CCS é a maior concentração de proteínas do soro, e considerável diminuição de caseína no leite (COELHO et al., 2014), desta forma, devido a redução quantitativa da proteína verdadeira, ocorre, também queda qualitativa das proteínas totais restantes, devido a redução da sua estabilidade, interferindo assim na titulação, alcalinizando o leite, (PAULA; CARDOSO; RANGEL, 2010; CIPRANDI; PEREIRA; PINTO, 2012).

## 4 CONCLUSÕES

A baixa acidez titulável é uma alteração na qualidade do leite, presente tanto em amostras individuais de leite de vacas como em amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais.

Amostras individuais de leite de vacas e amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais com baixa acidez titulável relacionam-se as elevadas contagens de células somáticas e baixa concentração de lactose.

Amostras individuais de leite com baixa acidez titulável também estão relacionadas a vacas com ordem de parto mais elevadas e redução no nível de nitrogénio ureico do leite.

A baixa acidez titulável não está relacionada às alterações nos demais componentes constituintes do leite.

## REFERÊNCIAS

AGANGA, A. A.; AMARTEIFIO, J. O.; NKILE, N. Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. **Journal of Composition and Analysis**, London, v. 15, n. 5, p. 533-543, 2002.

ALESSIO, D. R. M. et al. Multivariate analysis of the lactose content in milk of Holstein and Jersey cows. **Semina: Ciências Agrárias (Impresso)**, v. 37, p. supl. 1-2629, 2016.

ANDRADE, K. D. et al. Qualidade do leite bovino nas diferentes estações do ano no estado do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niteroi, v. 21, n. 3, p. 213-216, 2014.

BARCHIESI-FERRARI, C.G.; WILLIAMS SALINAS, P. A.; SALVO-GARRIDO, S. I. Inestabilidad de la leche asociada a componentes lácteos y estacionalidad en vacas a pastoreo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1785-1791, 2007.

BARROS, R. A. **Produção familiar de leite e de saber**: a extensão rural no controle da mastite e qualidade do leite na APA Coqueiral, MG. 2011. 171 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Faculdade, Lavras. 2011.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**: produção, industrialização e análise. 15.ed. São Paulo: Nobel, 1987.

BELOTI, V. et al. **Leite: obtenção, inspeção e qualidade.** Londrina: Planta, 2015.

BENCHEDLY, H. et al. Cell junction disruption after 36h milk accumulation was associated with changes in mammary secretory tissue activity and dynamics in lactating dairy goats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, n. 3, p. 105-111, 2009.

BIRGEL JR., E. H. **Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Gir e Girolando criados no Estado de São Paulo.** 2006. 335 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos nº 1255 de 25 de junho de 1962, nº 1236 de 2 de setembro de 1994, nº 1812 de 8 de fevereiro de 1996 e nº 2.244 de 4 de junho de 1997. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA.** Brasília, DF, 1997.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. **Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite.** Instrução Normativa 51, 18/09/02. Brasília: Ministério da Agricultura, 2002.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos.** Instrução Normativa 68, 12/12/06. Brasília: Ministério da Agricultura, 2006.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2017.

\_\_\_\_\_. Instrução Normativa nº 62, de 30 de dezembro de 2011. Aprova o regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite e o regulamento técnico da coleta do leite cru refrigerado e seu transporte a granel, em conformidade com os anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 1-24.

BRITO, M. A. et al. **Acidez titulável.** Agência de Informação Embrapa, 2012. Disponível em <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_194\\_21720039246.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_194_21720039246.html)> Acesso em: 05 fev. 2015.

CALDEIRA, L. A. et al. Avaliação da qualidade físico-química de leite pasteurizado tipo C comercializado em Belo Horizonte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 321, p. 107-110, 2006.

CALDEIRA, L. A. et al. Caracterização do leite comercializado em Janaúba, MG. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 191-195, abr/jun. 2010.

CALLEFE, J. L. R.; LANGONI, H. Qualidade do leite: uma meta a ser atingida. **Revista Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, SP, v. 22, n. 2, p. 151-162, jun. 2015.

CAMPOS, R. Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar a relação nutrição: fertilidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado, RS. **Anais...** Gramado, 2002. p. 40-48.

CARVALHO, G. F. Milk yield, somatic cell count and physicochemical characteristics of raw milk collected from dairy cows in Minas Gerais State. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Fepale, 2002. (CD-ROM).

CIPRANDI, A.; PEREIRA, B. P.; PINTO, A. T. Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em uma usina de beneficiamento da região metropolitana de Porto Alegre/RS. **Veterinária em Foco**, v. 9, n. 2, p. 128-133, jan./jun. 2012.

COELHO, K. O. et al. Efeito da contagem de células somáticas sobre o rendimento e a composição físico-química do queijo Muçarela. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 1260-1268, 2014.

DRINC (Dairy Research and Information Center). Department of Food Science & Technology University of California. **Um resumo de acidez titulável**. Davis, CA. Disponível em: <<http://drinc.ucdavis.edu/dairychem5.htm>> Acesso em: 06 fev. 2015.

DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 652-658.

FERNANDES, A. M.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, C. G. Effects of somatic cell counts in milk on physical and chemical characteristics of yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 111–115, 2007.

FORMAGGIONI, R. et al. Milk with abnormal acidity. The role of phosphorus content and the rennet-coagulation properties of Italian Friesian herd milk. **Ann Fac Med Vet Univ Parma**. v. 21, p. 261–268, 2001.

FREITAS, G. D. **Comparação entre o crescimento de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Staphylococcus* spp. E *Klebsiella pneumoniae* e a sensibilidade destas cepas ao processo de pasteurização lenta.** 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2007.

GABBI, A. M. et al. Typology and physical-chemical characterization of bovine milk produced with different production strategies. **Agricultural Systems**, v. 121, p. 130-134, 2013.

GEA. Process Engineering Pty. Ltd. **Análises do leite cru.** Disponível em: <<http://www.geap.com.au/gpau/cmsdoc.nsf/WebDoc/ndkw74aaj8>>. Acesso em: 03 fev. 2015.

GONZÁLEZ, F. D. et al. **Qualidade do leite bovino: variações no trópico e no subtrópico.** Passo Fundo: Ed. da UPF, 2011.

GRANDISSON, A. S.; FORD, G. D. Effects of variations in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield, composition and quality of cheddar cheese. **Journal of Dairy Research**, v. 53, n. 4, p. 645-655, 1986.

HARDING, F. **Milk quality.** London: Blackie Academic & Professional, 1995.

HARRIS JUNIOR, B.; BACHAMAN, K. C. **Nutritional and management factors affecting solid-non-fat, acidity and freezing point of milk.** Gainesville, Institute of Food and Agricultural Sciences, Florida Cooperative Extension Service, 2003. Disponível em <<http://ufdcimages.uflib.ufl.edu/ir/00/00/47/70/00001/ds15600.pdf>> Acesso em 27 dez. 2017.

IDF (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION). **Milk enumeration of somatic cells, Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters.** Bruxelas, Belgium, 2006. (IDF Standard 148-2).

\_\_\_\_\_. **Milk quantitative determination of bacteriological quality:** Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results. Bruxelas, Belgium, 2004. (IDF Standard 196).

\_\_\_\_\_. **Whole milk: determination of milkfat, protein and lactose content: Guidance on the operation of mid-infrared instruments.** Bruxelas, Belgium, 2000. (IDF Standard 141C).

KITCHEN, B. J. Reviews of the progress of dairy: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, v. 48, n. 1, p. 167-188, 1981.

LARANJA, L. F. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema de resfriamento. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998. Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba, p. 54-57, 1998.

MA, Y. et al. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 264–274, 2000.

MALACARNE, M. et al. Composition, coagulation properties and Parmigiano-Reggiano cheese yield of Italian Brown and Italian Friesian herd milks. **Journal of Dairy Research**, v. 73, p. 171–177, 2006.

MAPA/SDA/CGAL. Laboratório Nacional Agropecuário LANAGRO/RS. Laboratório de Produtos de Origem Animal Método de Ensaio – MET. **Determinação de acidez titulável em leite fluido.** p. 1 – 4, 22 abr. 2013. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%2020%2001%20Acidez%20em%20leite%20fluido.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%2020%2001%20Acidez%20em%20leite%20fluido.pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2015.

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.

\_\_\_\_\_ et al. Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 2724-2730, 2010.

MATIOLI, G. P. et al. Influência do leite proveniente de vacas mastíticas no rendimento de queijo Minas frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 54, n. 313, p. 38-45, 2000.

MATTIELLO, C. A. et al. Rendimento industrial, eficiência de fabricação e características físico-químicas de queijo colonial produzido a partir de leite com dois níveis de células somáticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2018. (no prelo).

MAZAL, G. et al. Effect of somatic cell count on Prato cheese composition. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 630–636, 2007.

McCARTHY, O. J.; SINGH, H. Physico-chemical properties of milk. In: McSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F. (Eds.). **Advanced dairy chemistry**, volume 3: lactose, water, salts and minor constituents. New York: Springer Science Business Media, 2009, p.691-758.

NORO, G. et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p.1129-1135, 2006.

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

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 1.

PAULA, F. P.; CARDOSO, C. E.; RANGEL, M. A. C. Análise Físico-química do leite cru refrigerado proveniente das propriedades leiteiras da região sul fluminense. **Revista Eletrônica TECCEN**, Vassouras, v. 3, n. 4, p. 7-18, out./dez., 2010.

PESSOA, R. B. et al. Avaliação da apoptose de leucócitos polimorfo nucleares CH138+ em leite bovino de alta e baixa contagem de células somáticas: dados preliminares. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 3, p. 533-539, 2012.

POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Association between somatic cell count of milk and cheese-yielding capacity. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 7, p. 1720-1727, 1988.

RIBAS, N. P. et al. Porcentagem de lactose em amostras de leite de tanque no Estado do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 3, p. 48-58, 2015.

RIBEIRO, M. E. R.; SCHAFHÄUSER JUNIOR, J.; ZANELA, M. B. (Eds.). **Leite instável: avanços científicos e caminhos para inovações na América Latina**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

RIBEIRO, M. E. R. et al. Leite instável no sul do Rio Grande do Sul, importância econômica e social. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE LECHE INSTABLE, 2. 2011, Montevideo-UYI, Universidad de La Republica. **Anais...** Montevideo-UYI: Universidad de La Republica, 2011. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/902170/1/ANALISISICONFERENCIALECHEINESTABLE34.pdf>> Acesso em 17 dez. 2011.

RIBEIRO JUNIOR, J. C. et al. Quality of milk produced by small and large dairy producers. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 883-888, 2015.

RODRIGUES, E. et al. Qualidade do leite e derivados: processos, processamento tecnológico e índices. **Manual técnico**, Pesagro - Rio. Programa Rio Rural, Niterói, RJ, n. 37, 2013.

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

ROSA, D. C. et al. Qualidade do leite em amostras individuais e de tanque de vacas leiteiras. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 4, p. 485-493, out./dez., 2012.

SABEDOT, M. A. et al. Isolamento de bactérias causadoras de mastite subclínica e correlação entre qualidade físico-química do leite e contagem de células somáticas. **Revista Ciência Veterinária e Saúde Pública**, Umuarama, v. 1, n. 2, p. 99-106, 2014.

SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM). **Statistical analysis system user's guide: statistics**. Version 8.2, Cary: SAS Institute, 2002.

SILVA, L. C. C. et al. Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, n. 384, p. 55-60, 2012.

STUMPF, M. T. et al. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell “tight junctions” and reduces ethanol stability of milk. **Animal**. v. 7, p. 1137-1142, 2013.

SUMMER, A. et al. Structural and functional characteristics of Modenese cow milk in Parmigiano-Reggiano cheese production. **Ann Fac Med Vet Univ Parma**, v. 22, p. 163–174, 2002.

TEIXEIRA, N. M.; FREITAS, A. F.; BARRA, R. B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, 2003.

TOMAZI. T. et al. Bovine subclinical intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci increases somatic cell count but has no effect on milk yield or composition. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3071-3078, 2015.

TYRISEVA, A. M. et al. Noncoagulation of milk in Finnish Ayrshire and Holstein-Friesian cows and effect of herds on milk coagulation ability. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3958–3966, 2004.

VELOSO, C. R. V. Noções básicas da acidez. In: BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **A qualidade do leite**. Juiz de Fora. São Paulo: Tortuga, 1998, p. 91-98.

VIANNA, P. C. B. et al. Microbial and sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1743-1750, 2008.

WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist ? **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, p. 189-192, 1999.

\_\_\_\_\_ ; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. 2.nd. ed. Oxford: Taylor & Francis, 1999.

ZAFALON, L. F. et al. Alterações da composição e da produção de leite oriundos de quartos mamários de vacas com e sem mastite subclínica de acordo com o estágio e o número de lactações. **Arquivos de Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 419-426, out./dez., 2005.

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, p. 153-159, 2006.



## **CAPÍTULO III – ARTIGO CIENTÍFICO**

### **CARACTERIZAÇÃO DA BAIXA ACIDEZ TITULÁVEL DO LEITE EM PLATAFORMA DE INDÚSTRIA, DE VACAS INDIVIDUAIS E EM LEITE CONJUNTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS**

\*Luís Carlos Arruda Junior<sup>1,2</sup>, Marciel França<sup>1</sup>, Ivan Pedro de Oliveira Gomes<sup>2</sup>,

André Thaler Neto<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup>Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias (UDESC/CAV), Lages/SC, e-mail: luis.arruda@ifc.edu.br

<sup>2</sup>Professor do Departamento de Produção Animal e Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias (UDESC/CAV), Lages/SC, e-mail: andre.thaler@udesc.br



## CARACTERIZAÇÃO DA BAIXA ACIDEZ TITULÁVEL DO LEITE EM PLATAFORMA DE INDÚSTRIA, DE VACAS INDIVIDUAIS E EM LEITE CONJUNTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS

**RESUMO:** A acidez titulável (AT) é uma ferramenta de diagnóstico da qualidade do leite, sendo sugestivo de alterações no leite (fraudes ou manipulação inadequada ou desbalanço fisiológico das vacas). Essas alterações podem tornar o leite impróprio ao consumo humano e processamento industrial. A AT tem limites legais entre 14 e 18° dornic (°D). Valores superiores são relacionados a defeitos de origem microbiana (fermentação), valores de AT  $<14^{\circ}\text{D}$  tem sido observados nos últimos anos, com escassos relatos na literatura. Objetivou-se avaliar a prevalência da baixa AT em amostras de leite de plataforma de indústria, sua relação com as condições climáticas e outros indicadores de qualidade do leite, assim como comparar amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais e amostras de leite individual de vacas que apresentam baixa AT com amostras com AT normal, na mesorregião Meio-Oeste de Santa Catarina. Os estabelecimentos rurais foram categorizados em duas classes (AT  $<14^{\circ}\text{D}$  e AT  $\geq 14^{\circ}\text{D}$ ). A pesquisa foi desenvolvida em duas etapas. O primeiro estudo focou no levantamento histórico temporal da baixa AT em diferentes épocas do ano em compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte de um laticínio parceiro, de julho de 2014 a dezembro de 2017, junto aos dados meteorológicos do período. Os dados foram analisados por regressão logística com distribuição binomial e análise fatorial multivariada. No segundo estudo, avaliou-se amostras de leite conjunto, dados zootécnicos, CCS, CPP e parâmetros físico-químicos de 29 estabelecimentos rurais e de 157 amostras de leite de vacas individuais, excetuando-se as análises de CPP para as amostras de leite individual de vacas. Os dados foram submetidos a análise de variância, transformação logarítmica, teste de qui-quadrado e análise fatorial multivariada. No primeiro estudo, das 166.488 amostras, 528 apresentaram AT  $<14^{\circ}\text{D}$ , associada a períodos com elevado índice de temperatura e umidade, caracterizando como um fenômeno sazonal. No segundo estudo, das 157 amostras, em 111 destas, encontrou-se AT  $<14^{\circ}\text{D}$ , sendo que as amostras com baixa AT apresentaram índice crioscópico maior, porém na escala normatizada (leite de vaca individual e leite conjunto de estabelecimentos rurais), menores teores de lactose (leite conjunto de estabelecimentos rurais), estágio de lactação mais avançado, maior CCS, redução no teor de lactose, com maior probabilidade de apresentar reação positiva para o teste que detecta a presença de cloreto (leite de vaca individual) e, também que a baixa AT é mais frequente em estabelecimentos rurais menos tecnificados em manejo alimentar, sobretudo aqueles com baixo teor de nitrogênio ureico no leite.

**Palavras-chave:** Composição do leite. Graus dornic. Legislação. Leite de estabelecimentos rurais. Parâmetros físico-químicos do leite.

## CHARACTERIZATION OF THE LOW TITRATABLE ACIDITY OF THE MILK IN THE INDUSTRY PLATFORM, OF INDIVIDUAL COWS AND IN MILK SET FROM RURAL ESTABLISHMENTS

**ABSTRACT:** The titratable acidity (TA) is a diagnostic tool milk quality indicating changes in milk properties (fraud or improper handling or physiological unbalance cows). These changes may make milk unfit for human consumption and industrial processing. The TA has

legal limits between 14 and 18° Dornic (°D). Higher values are related to defect of microbial origin (fermentation) values of TA <14°D have been observed in recent years with few literature reports. The study aim was to evaluate the prevalence of low TA in milk samples from industry platform its relationship with climatic conditions and other indicators of milk quality as well as comparing milk set samples from rural establishments and milk samples from individual cows that present low TA with samples with normal TA, in mid-west mesoregion of Santa Catarina State. Rural establishments were categorized into two classes (TA <14°D and TA ≥14°D). The research was developed in two stages. The first stage focused on the temporal historical survey of the low TA at different times of the year in compartments of isothermal tank trucks of first transport of a dairy partner, from july 2014 to december 2017, next to meteorological data of the period. The data were analyzed by logistic regression with binomial distribution and multivariate factor analysis. In the second stage, milk set samples, zootechnical data, somatic cell count (SCC), standard plaque counts (SPC) and physicochemical parameters were evaluated from 29 rural establishments and 157 milk samples from individual cows with the exception of SPC analyzes for milk samples from individual cows. The data were submitted to variance analysis, logarithmic transformation, chi-square test and multivariate factor analysis. In the first stage, of the 166.488 samples 528 presented TA <14°D, associated to period with high temperature and humidity index being characterized as a seasonal phenomenon. In the second stage, of the 157 samples 111 presented TA <14°D, being related to higher cryoscopy but within the legalized standard, lower lactose content (milk from individual cows and milk set from rural establishments), higher lactational stage, higher SCC, with a higher probability of positivity in the qualitative test for chlorides (individual cow's milk). It was also characterized a higher frequency of samples with low TA in rural establishments less technified in food management, especially those with low ureic nitrogen in milk.

**Keywords:** Milk composition. Dornic degrees. Legislation. Milk set from rural establishments. Physicochemical parameters of milk.

## 1 INTRODUÇÃO

Estimativas apontam crescimento na produção de leite no Brasil na ordem de 3,2% ao ano, até 2024 (FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2014), sendo o Estado de Santa Catarina o quarto maior produtor de leite do país. Comparando-se o valor bruto da produção dos produtos da agropecuária catarinense, o leite alcançou a terceira posição em 2017, com dados preliminares de R\$ 3.575.206,70 (SANTA CATARINA, 2018). Com relação ao número de produtores comerciais o Estado detinha, em 2016, mais de 45 mil atuando no segmento leite (EPAGRI, 2017).

Em termos regionais as variações no comportamento da produção consolidam algumas bacias leiteiras, com taxas de crescimento superiores às do Brasil (SANTA CATARINA, 2018). O Estado de Santa Catarina possui área de 95.703 Km<sup>2</sup> e é dividido geograficamente em seis mesorregiões. A mesorregião Oeste é a maior destas, com área de 27.275 Km<sup>2</sup>, representando 28,5% do total da área territorial do Estado catarinense (EPAGRI, 2017). A

variação na produção de leite no Oeste Catarinense entre os anos de 2011 a 2015 teve incremento de 24,5%, participando com 75,1% da produção leiteira estadual. A microrregião de Joaçaba, no mesmo período teve acréscimo de 16,4%, participando com 6% da produção leiteira estadual, com 183,5 milhões de litros em 2015 (SANTA CATARINA, 2018).

A qualidade do leite cru não é apenas uma necessidade industrial ou vantagem competitiva, trata-se de questão legal, com implicação na saúde pública, além de ser condição na comercialização e industrialização. Quanto à qualidade do leite, do ponto de vista legal e prático, consideram-se a composição centesimal, tais como os teores de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado (ESD), características físico-químicas, dentre as quais se inclui a acidez titulável (AT), e os aspectos higiênico-sanitários, os quais englobam os padrões relacionados à contagem de células somáticas (CCS) e à contagem padrão em placas (CPP) (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017; VARGAS et al., 2013; 2014).

A qualidade dos componentes do leite tem sido iminente preocupação para produtores, indústrias e entidades governamentais vinculadas ao controle da produção e beneficiamento alimentar. Desta forma, os laticínios necessitam submeter à matéria-prima leite a provas de qualidade composicional, visando sua autenticidade. De acordo com a legislação sanitária federal, todo leite deve ser classificado em um padrão de qualidade normatizado, devendo os laticínios e indústrias beneficiadoras submetê-lo a provas de qualidade composicional e nutricional, justificando sua aptidão ao adequado processamento (BRASIL. MAPA, 2008).

Existem iniciativas governamentais visando melhorias na qualidade do leite, como a implantação de normas nacionais de padrões de qualidade de leite, determinadas pelo Programa Nacional de Melhoria da Qualidade de Leite, em 1997. Na atualidade, estão em vigor no Brasil, sendo controlados através do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) a Instrução Normativa 62/2011, a Instrução Normativa 7/2016 e o Decreto Nº 9.013/2017 (BRASIL, 2011; BRASIL, 2016; BRASIL, 2017).

Características físicas como AT tem elevada importância na produção de derivados lácteos, sendo empregada como uma das ferramentas de diagnóstico da qualidade do leite, fornecendo informações relevantes para seleção e monitoramento da matéria prima. Tanto a IN62/2011, quanto no Decreto 9.013/2017 estão estabelecidos limites legais entre 14 a 18ºD para o teste da AT (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017).

No entanto, as variações individuais de animal para animal, as diversas e, também, adversas condições do ambiente, sobretudo em função da temperatura, exercem influencia na produção e composição do leite das vacas (RHOADS et al., 2009). De acordo com Polsky e Von Keyserlingk (2017) um dos desafios mais importantes na atualidade para os sistemas

produtivos do leite estão sendo os relacionados ao estresse térmico aos quais as vacas estão sujeitas. O calor exerce efeitos deletérios na produção e composição do leite, devido o estresse térmico alterar o funcionamento biológico das vacas em lactação, ocorrendo assim menor consumo alimentar voluntário, e, desta forma, reduz-se os nutrientes envolvidos na síntese do leite, acarretando menor produção (RHOADS et al., 2009; POLSKY; VON KEYSERLINGK, 2017).

A crescente demanda por leite pela população tem lançado responsabilidades sobre os produtores para que aumentem a produção, explorando a capacidade animal de produzir mais. A produção e a composição do leite têm sido amplamente estudadas. No entanto, em algumas bacias leiteiras específicas, como a do Meio Oeste Catarinense, existe certa deficiência em pesquisas nessa atividade tão relevante. Portanto, consideram-se fundamentais estudos que auxiliem na qualidade do leite produzido e beneficiado em regiões específicas do Estado.

Normalmente, o maior objetivo da avaliação da AT é o descarte de leite com elevada acidez, pois elevada AT normalmente está associada à alta concentração de ácido láctico que, por sua vez, resulta de elevada contaminação bacteriana do leite, indicada pela alta contagem padrão em placas (CPP), a qual que promove a metabolização de lactose a ácidos, dentre estes o láctico é o principal (HARRIS JUNIOR; BACHAMAN, 2003; CALDEIRA et al., 2010).

A acidez no leite cru não deve ser confundida com a acidez que se forma no leite, através do crescimento de bactérias (acidez verdadeira) (BRITO et al., 2012). A lactose, carboidrato do leite, ao ser fermentada por ação de microrganismos forma ácidos orgânicos, em especial o ácido láctico, resultando na chamada acidez adquirida. A acidez adquirida em conjunto com a acidez natural forma a acidez verdadeira do leite (MAPA/SDA/CGAL, 2013).

No entanto, é necessário certo critério no julgamento da qualidade do leite, somente baseado neste ensaio (BRASIL, 2002; BRASIL, 2006). Situações relacionadas à baixa AT do leite cru não vem sendo amplamente discutidas, particularmente quando se utiliza 14°D como delimitador de qualidade. Neste sentido, a AT é um parâmetro que pode compor o diagnóstico de outras alterações no leite cru. Porém, se utilizado de maneira equivocada e ou inadequadamente, pode-se estar penalizando injustamente os fornecedores da matéria-prima, uma vez que a AT pode ser influenciada negativamente por fatores não higiênicos variados.

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar a prevalência da baixa acidez titulável em amostras de leite em plataforma de recebimento de indústria de laticínios, ou seja, em compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte de leite e relacionar esta variável com as condições climáticas e os principais indicadores de qualidade do leite,

assim como comparar amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais e de leite individual de vacas que apresentam baixa AT com amostras apresentando AT normal.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os estabelecimentos rurais participantes do estudo foram uma parcela daqueles que comercializaram sua produção leiteira ao Lacticínios Tirol LTDA, sob Serviço de Inspeção Federal (S.I.F.). Estes estabelecimentos rurais foram caracterizados por meio de um questionário guia semiestruturado (Apêndice A), devidamente autorizado pelos produtores, através da explicitação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B), sob a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) sob o nº referência CAAE: 62609716.9.0000.0118, parecer número 1.934.125, em 20/02/2017, na Plataforma Brasil - Ministério da Saúde.

A pesquisa foi desenvolvida em duas etapas, sendo o primeiro estudo um levantamento histórico temporal, da prevalência da baixa acidez titulável (AT) em diferentes épocas do ano, utilizando banco de dados de amostras de leite oriundas de compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte de leite, ou seja, do estabelecimento rural até a plataforma de recepção do laticínio, no período de 01/07/2014 a 31/12/2017, perfazendo 166.448 observações.

Para melhor compreender a relação entre baixa AT do leite com as condições meteorológicas e, eventualmente, condições de estresse dos animais, foi realizado um estudo retrospectivo histórico temporal sobre a prevalência da baixa AT e suas relações com as condições meteorológicas, nas diferentes estações climáticas do ano, nas datas do recebimento do leite, sendo paralelamente utilizados dados da estação meteorológica de observação de superfície automática. Para isto, foram utilizados dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), da estação meteorológica do município Joaçaba, sede da microrregião meio Oeste, situada nas coordenadas geográficas: latitude: - 27.169268°, longitude: -51.558963°, altitude: 768 metros. Nesta mesma microrregião está localizado o laticínio parceiro da pesquisa e, também os estabelecimentos rurais nos quais foram realizados os estudos (Figura 1). Os dados meteorológicos utilizados no estudo foram coletados em intervalos de uma hora.

Figura 1 – Mapa da microrregião de Joaçaba, a qual esta situada na mesorregião Meio Oeste do Estado de Santa Catarina, com destaque aos municípios onde situam-se os estabelecimentos rurais pesquisados.



Fonte: Adaptado de IBGE (2006).

A partir dos dados meteorológicos foi estimado o Índice de Temperatura e Umidade (ITU), a partir do modelo proposto por THOM (1959), conforme descrito na equação abaixo:

$$ITU = (0,8 \times TA + (UR/100) \times (TA - 14,4) + 46,4)$$

Em que; TA = temperatura do ar ( $^{\circ}\text{C}$ ) e UR = umidade relativa do ar (%).

Os dados de AT foram analisados utilizando o pacote estatístico SAS<sup>®</sup> (SAS, 2002). Inicialmente foram geradas prevalências diárias e mensais de compartimentos de caminhões-estanque isotérmicos de primeiro transporte de leite com AT  $<14^{\circ}\text{C}$ , os quais foram considerados como baixa AT, utilizando o procedimento FREQ. Paralelamente foram geradas frequências para AT  $\geq 14^{\circ}\text{C}$ . A relação entre a AT (baixa ou normal), com os demais indicadores de qualidade do leite disponíveis (teor de gordura, resistência ao teste do álcool e índice crioscópico) foram analisados por análise fatorial, técnica de análise multivariada, sendo a análise fatorial realizada pelo procedimento FACTOR, com a rotação da matriz Promax, sendo os dados previamente padronizados pelo procedimento STANDARD.

Em um conjunto de dados (n 14.985), composto pelos meses de elevada prevalência da baixa AT (janeiro a março de 2017), foi avaliado o efeito do ITU máximo no dia anterior à coleta do leite sobre a probabilidade de ocorrência de baixa AT. Este dia foi escolhido por representar o período médio de ordenha do leite armazenado nos estabelecimentos rurais, visto que na maioria destes estabelecimentos rurais da região a captação do leite ocorre a cada 2 dias e, em uma parcela menor ocorre diariamente. Estas análises estatísticas foram

realizadas através de um modelo linear generalizado, com distribuição binomial (regressão logística), utilizando-se o procedimento GLIMMIX do pacote estatístico SAS® (SAS, 2002).

No segundo estudo foram realizadas análises de amostras de leite individuais de vacas, amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais e de informações dos dados zootécnicos de estabelecimentos rurais identificados com leite de baixa AT, em uma população de estabelecimentos rurais selecionados a partir dos resultados da baixa titulação em amostras do leite conjunto e, as possíveis relações desta não conformidade com as análises físico-químicas, de CCS e de CPP do leite.

Foram analisados dados de parte de produtores de leite, no Estado de Santa Catarina, que comercializaram sua produção ao Lacticínios Tirol LTDA, sob S.I.F. Os 29 estabelecimentos rurais estavam situados na Mesorregião Meio Oeste catarinense, mais precisamente na microrregião pertencente ao município de Joaçaba.

Os dados para a seleção dos estabelecimentos rurais foram fornecidos pelo laticínio parceiro, a partir da identificação de compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte de leite, com amostra de leite apresentando AT <14ºD. A partir da constatação desta não conformidade, técnicos do Departamento de Fomento do laticínio parceiro retornaram, na ordenha seguinte, aos estabelecimentos rurais formadores do *pool* do leite do compartimento do caminhão-tanque isotérmico identificado com baixa AT, onde coletaram novas amostras do leite conjunto destes estabelecimentos rurais. Em se tendo a análise do leite confirmado como AT <14ºD o pesquisador foi comunicado, deslocando-se no menor espaço de tempo possível aos respectivos estabelecimentos rurais que apresentaram a não conformidade, assim como aos estabelecimentos rurais caracterizados como testemunhos.

Os estabelecimentos rurais testemunhos eram aqueles onde as amostras de leite cru apresentaram AT  $\geq$ 14ºD, localizadas próximas aos estabelecimentos rurais com baixa AT em amostras de leite. Ressalta-se o aspecto de estes estabelecimentos rurais classificados como testemunhos apresentarem volume de produção de leite e sistemas de produção bastante similares aos estabelecimentos rurais identificados com leite de baixa AT.

As amostragens foram realizadas em nove visitas técnicas, no período de 06/01 a 30/05/2017, todas com a participação do pesquisador, conjuntamente com o mesmo técnico indicado pela equipe de fomento do laticínio parceiro.

Quanto aos aspectos zootécnicos e de grupamentos raciais, as vacas estavam representadas por animais das raças Holandesa e mestiças  $\frac{1}{2}$  Jersey x  $\frac{1}{2}$  Holandês, em vários estágios de lactação e ordem de parto.

Nos estabelecimentos rurais identificados com baixa AT foram coletadas amostras individuais de leite das vacas e também do leite conjunto (Figura 2). As amostras de leite individual foram coletadas na seguinte proporção das vacas em ordenha: para os estabelecimentos rurais com até 10 vacas foi coletado leite de todos os animais, entre 11 e 50 vacas foram coletadas 40% das vacas, sendo o mínimo de 10 vacas. Nos estabelecimentos rurais com 51 a 100 vacas foram coletadas 30% das vacas. Nos estabelecimentos rurais caracterizados como testemunhos, coletaram-se amostras somente do leite conjunto, devido ao aspecto de, tanto o leite dos compartimentos de caminhões-tanque isotérmicos de primeiro transporte, quanto ao leite conjunto destes estabelecimentos rurais apresentarem a titulação com AT dentro da normalidade ( $\geq 14^{\circ}\text{D}$ ).

Em todas as coletas, quer seja de leite individual de vacas e ou leite conjunto dos estabelecimentos rurais, foram utilizados os frascos fornecidos pelos laboratórios onde foram realizados os ensaios.

Na metodologia de amostragem de leite das 157 vacas coletadas individualmente, destaca-se a seguir a sequencia da preparação do material para a coleta, coleta propriamente dita das amostras, preenchimento da planilha de campo, e, por fim, a logística do armazenamento e envio das amostras aos destinos de análises laboratoriais.

Na preparação do material para coleta foram identificados os frascos numerando-os de forma sequencial, do menor número até o maior, conforme os códigos de cada estabelecimento rural, bem como da forma de identificação das vacas. Após este passo, os frascos foram ordenados na caixa isotérmica de armazenamento, resfriamento e transporte. Nos casos em que se utilizou mais de uma caixa, continuou-se a numeração de forma sequencial, identificando-se também a, ou as, caixas utilizadas, visando-se evitar falhas no rastreio da origem das amostras e atrasos na liberação dos laudos.

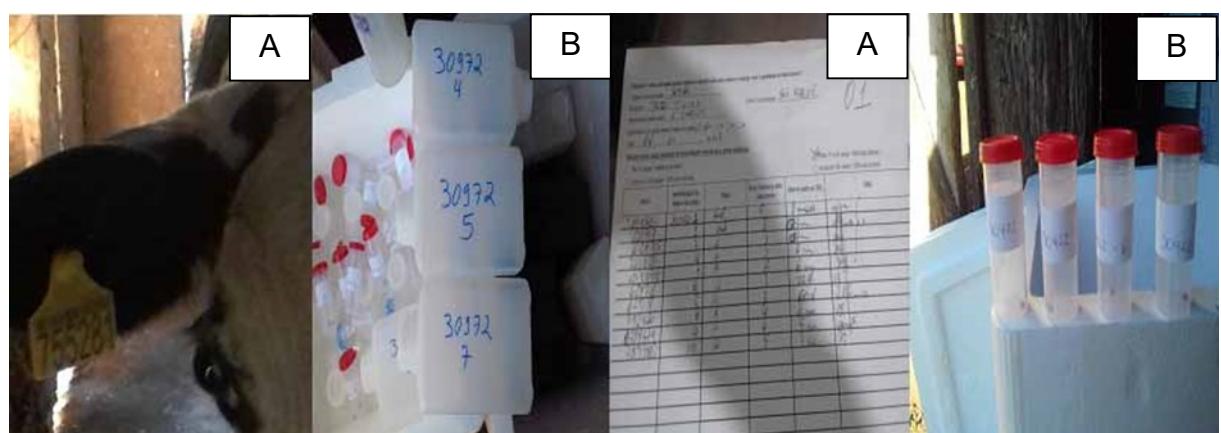
Nas coletas das amostras de leite não houve nenhum estabelecimento rural com sistema de ordenha com medidor de leite. Todos os estabelecimentos rurais apresentavam duas ordenhas ao dia. Assim sendo, as amostras foram coletadas em ordenhas de momentos distintos do dia. Desta forma, adquiriram-se amostras do leite individual das vacas do período matutino, ou do período vespertino.

Os procedimentos deram-se na sequencia apresentada. Em primeiro momento homogeneizou-se o leite, transferindo de um balde para outro, pelo menos duas vezes, utilizando baldes limpos no intuito da não contaminação para a próxima amostragem. Após esse procedimento com o auxílio de uma concha de alumínio, lavada com detergente neutro e uso de bucha vegetal imediatamente antes de cada coleta, transferiu-se o leite do balde para os

frascos. Imediatamente após a coleta, realizaram-se movimentos suaves para não formar espuma dentro do frasco, virando o frasco de cabeça para baixo e voltando por aproximadamente 10 vezes. Após, os frascos foram armazenados na caixa isotérmica e, após cerca de 15 min repetiu-se o processo, virando a caixa toda de ponta cabeça algumas vezes no intuito de se completar a diluição.

Após, a coleta de leite, foram preenchidos os dados de identificação, nas planilhas criadas especificamente para este projeto (Figura 2A), identificando-se o remetente, o estabelecimento rural, as análises desejadas, a numeração dos frascos e a identificação das vacas (brinco ou nome).

Figura 2 – Procedimentos de coletas de amostras de leite individual de vacas e de leite conjunto (B), de dados zootécnicos (A) dos estabelecimentos rurais testemunhos e dos identificados com leite de baixa acidez titulável.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Quanto à metodologia de amostragem do leite conjunto dos estabelecimentos rurais todas as coletas foram de leite armazenado em tanque de refrigeração por expansão direta. Nesta etapa, também não houve nenhum estabelecimento rural com sistema de ordenha com medidor de leite. Também foram coletadas amostras do leite em momentos distintos do dia, sendo adquiridas amostras compostas, ou seja, coletando-se leite ordenhado e armazenado do período matutino, assim como do período vespertino, ou ambos.

A amostragem de leite conjunto totalizou um espectro de 29 estabelecimentos rurais. Em todas as coletas procedeu-se da mesma forma. Nos estabelecimentos rurais testemunhos, quando da chegada, ligou-se o agitador dos tanques de expansão que não estavam ativados no momento, durante aproximadamente cinco minutos, para homogeneização do leite, quando no caso dos que já estavam em fase de agitação, somente aguardou-se o mesmo tempo de funcionamento. Após esse procedimento, calçaram-se luvas esterilizadas de látex descartáveis

e, com o auxílio de uma concha de alumínio, desinfetada com solução alcoólica 96% v/v imediatamente antes de cada coleta, colhendo-se as amostras a aproximadamente 10 cm abaixo da superfície do volume contido. As amostras de leite conjunto foram obtidas a partir do total de leite produzido por estabelecimento rural no período máximo de 48 h (Figura 3B).

Para a tabulação dos dados, cada amostra foi enumerada de acordo com a identificação codada para cada estabelecimento rural. No término das atividades, as amostras foram acondicionadas e transportadas até a sede administrativa do laticínio parceiro em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável fornecidas pelos laboratórios. Na sede administrativa do laticínio parceiro os frascos contendo as amostras de leite individual de vacas e amostras do leite conjunto dos estabelecimentos rurais foram transferidos e armazenados em refrigerador comercial, onde a temperatura das amostras foi mantida não superior a 4°C (Figura 3D), sendo as amostras encaminhadas, refrigeradas, às análises definitivas em um prazo máximo de 48 h, quando não no dia seguinte da coleta.

Figura 3 – Coleta e acondicionamento de amostras de leite (A), (B), registro dos dados zootécnicos (C), armazenamento das amostras durante a logística em refrigerador comercial (D) e frascos utilizados na amostragem de leite de vacas individuais e de leite conjunto dos estabelecimentos rurais (E).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

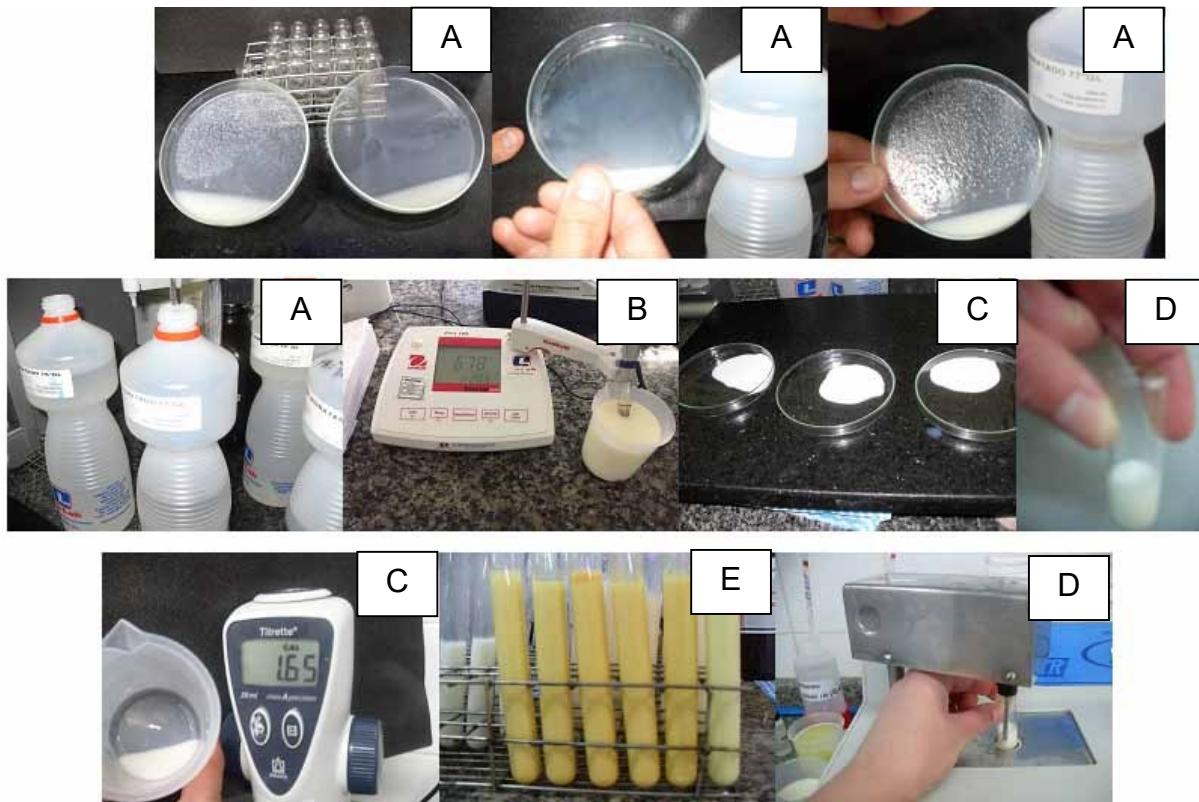
As amostras destinadas às análises de composição centesimal do leite (gordura, proteína, caseína, lactose, nitrogênio uréico no leite – NUL - extrato seco total – EST –

extrato seco desengordurado - ESD) e da contagem de células somáticas (CCS) foram acondicionadas contendo como agente conservante o Bronopol®. Estas análises foram efetuadas no Laboratório Estadual da Qualidade do Leite, do Centro Estadual de Pesquisas e Diagnóstico em Alimentos, no município de Concórdia, Estado de Santa Catarina (CEPDA/LAB LEITE). Este laboratório é credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como integrante da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL). Neste laboratório também foram realizados os ensaios para contagem padrão em placas (CPP) nas amostras de leite conjunto, sendo acondicionadas com o conservante Azidiol®, atuando como agente bacteriostático.

A CCS foi determinada em contador eletrônico, através do método de citometria de fluxo, segundo as normas do Internacional IDF Standart 148-2 (2006). Para a determinação dos teores de gordura, proteína, caseína, NUL, lactose, EST e ESD, foi utilizada a técnica de leitura de absorção infravermelha, por meio de espectrofotometria por radiação infravermelha, segundo as normas do Internacional IDF Standart 141C (2000). As análises de CPP foram realizadas empregando-se a metodologia de citometria de fluxo, segundo as normas do Internacional IDF Standart 196 (2004). Os recipientes destinados à análise microbiológica são fornecidos esterilizados. Ambos os conservantes já estavam inclusos, cada qual, nos recipientes fornecidos pelo laboratório.

No laboratório interno de qualidade do leite do laticínio parceiro foram realizados os ensaios de teste de estabilidade da caseína na presença de álcool etílico, sendo empregada a técnica com concentrações crescentes de álcool, partindo-se da graduação de 68°GL (Gay Lussac), com intervalos crescentes de 2°GL, até o momento em que a análise indique como resultado positivo a menor concentração alcoólica em que se visualizou a precipitação do leite. Também foram determinados a AT, índice crioscópico, prova qualitativa para cloretos, e teste do potencial hidrogenionico (pH) do leite (Figura 4).

Figura 4 – Procedimentos metodológicos e analíticos empregados nos testes do leite no laboratório interno de qualidade do laticínio parceiro. Teste de estabilidade da caseína na presença de álcool etílico (A), teste do potencial hidrogenionico (pH) do leite (B), teste da titulação da acidez do leite (C), índice crioscópico (D) e prova qualitativa para cloreto (E).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Para as análises laboratoriais, a fim de padronização, seguiram-se as metodologias preconizadas na IN68/2006, em todas as análises, nos três laboratórios acionados para este estudo (BRASIL, 2006). A análise de acidez do leite pelo método °D foi medida segundo a metodologia B da referida normativa. No teste da AT, uma substância básica muito forte (isto é, alcalina), o NaOH (hidróxido de sódio) é usada para neutralizar os compostos ácidos do leite. Uma substância indicadora (fenolftaleína) é usada para mostrar a quantidade do álcali que foi necessária para neutralizar o ácido do leite. O indicador permanece incolor quando misturado com uma substância ácida, mas adquire coloração rosa em meio alcalino. Portanto, o álcali (NaOH N/9) é adicionado ao leite até que adquira a coloração rósea. Cada 0,1ml da solução de NaOH N/9 gasto no teste corresponde a 1°D ou 0,1g de ácido láctico/litro (BRASIL, 2006; BRITO et al., 2012).

Todos os resultados das análises laboratoriais foram comparados aos valores estabelecidos na IN62 (BRASIL, 2011) e no Decreto Nº 9.013 (BRASIL, 2017). Ainda, com relação às análises de bancada, cada uma destas foi executada, na medida do possível, pelo

mesmo avaliador. Por tratar-se de testes subjetivos, sua operacionalização, por diferentes pessoas, tende a influenciar os resultados, aferindo-se possível diferença entre avaliadores e os resultados nas mesmas amostras analisadas.

No intuito em se caracterizar os estabelecimentos rurais e avaliar os efeitos das práticas de manejo sobre a AT do leite, uma das metodologias empregada foi a utilização de um questionário guia semi-estruturado, sendo direcionado aos proprietários dos rebanhos leiteiros, seguindo a metodologia de Hagquette, (1990) e Thiollent, (1996).

Este questionário foi aplicado na mesma visita técnica, em conjunto com a amostragem do leite. A aplicação deste questionário foi realizada pelo pesquisador e deu-se na forma de entrevista direta, com duração média de uma hora e trinta minutos. Desta forma, foram abordados aspectos relacionados quanto à caracterização e estrutura dos estabelecimentos rurais, o tamanho, os aspectos de sanidade dos rebanhos, as condições de bem estar e conforto térmico ofertados aos animais, da comercialização do leite, uso de medicamentos, manejo geral com destaque a alimentação dos animais, bem como dos fatores relacionados à saúde da glândula mamária, variáveis fisiológicas dos animais, qualidade físico-química e higiênico-sanitária do leite e dos métodos de obtenção e resfriamento do leite. Os resultados da aplicação do questionário foram armazenados em planilhas do software Excel®. Estas informações foram tabuladas e organizadas através do cruzamento de dados por distribuição de frequência para compor as devidas discussões. Também foi estruturada uma base de dados com informações referentes às análises da composição centesimal, da CCS e da CPP do leite cru, considerando-se os dados gerados nos laudos das amostras.

Os 29 estabelecimentos rurais participantes da pesquisa de campo estavam situados geograficamente em pontos distintos de seis municípios, aqui nomeados por ordem alfabética: Água Doce, Arroio Trinta, Herval do Oeste, Ibicaré, Salto Veloso e Treze Tílias. A área de abrangência da pesquisa de campo delimita-se à mesorregião Meio Oeste catarinense, onde estavam concentrados os estabelecimentos rurais pesquisados, bem como o laticínio parceiro da pesquisa (Figuras 1 e 5).

Figura 5 – Mapa do Estado de Santa Catarina, destacando a mesorregião de localização dos estabelecimentos rurais pesquisados.



Fonte: Adaptado de IBGE (2006).

Os dados oriundos das análises de qualidade do leite das vacas individuais e também do leite conjunto dos estabelecimentos rurais, bem como das variáveis obtidas através da aplicação do questionário aos produtores foram submetidos a análise de variância, utilizando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS® (SAS, 2002), sendo que as variáveis dependentes CCS e CPP sofreram transformação logarítmica, visando-se a maior normalidade dos dados, sendo os dados previamente testados para normalidade dos resíduos pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis binárias oriundas dos questionários aplicadas aos produtores foram comparadas pelo teste de qui-quadrado, utilizando-se o procedimento FREQ do pacote estatístico SAS® (SAS, 2002).

Para fins de estudo, a variável AT foi transformada em variável binária, formando-se duas classes, onde considerou-se baixa AT quando  $<14^{\circ}\text{D}$  e, AT normal quando  $\geq14^{\circ}\text{D}$ . Os valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativamente diferentes, valores de  $P$  entre 0,05 e 0,10 foram considerados como tendência.

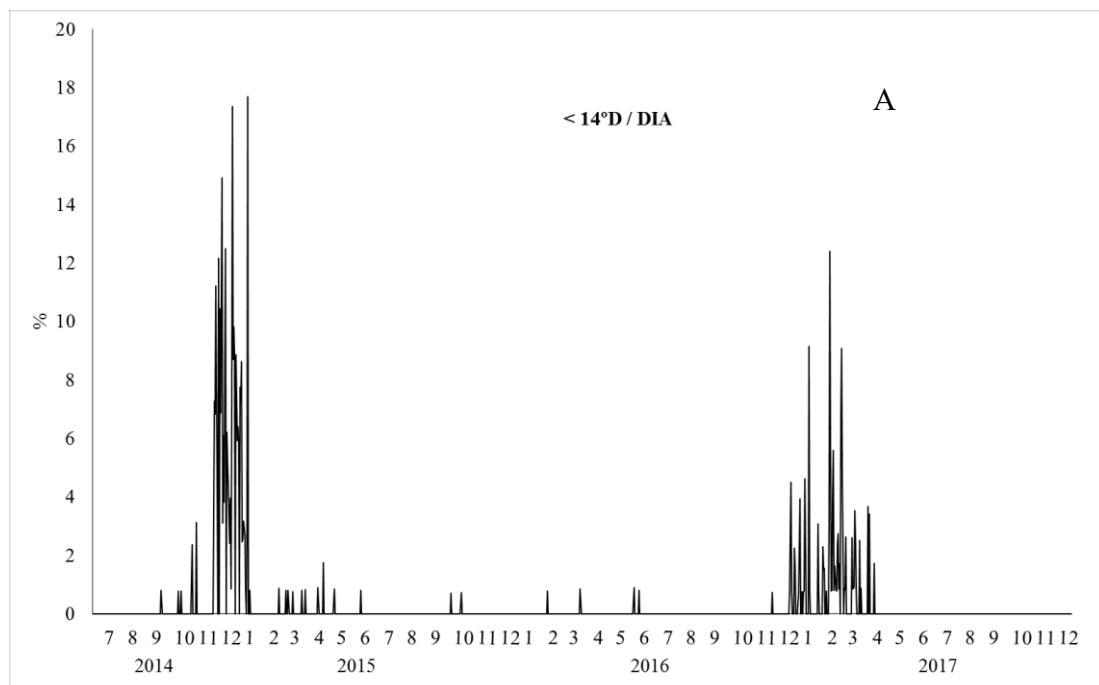
Complementarmente, os dados oriundos das análises de leite e os dados inerentes aos animais (dias em lactação e ordem de parto), nas avaliações de leite individual de vacas, foram analizados por técnica fatorial (análise multivariada), sendo realizada pelo procedimento

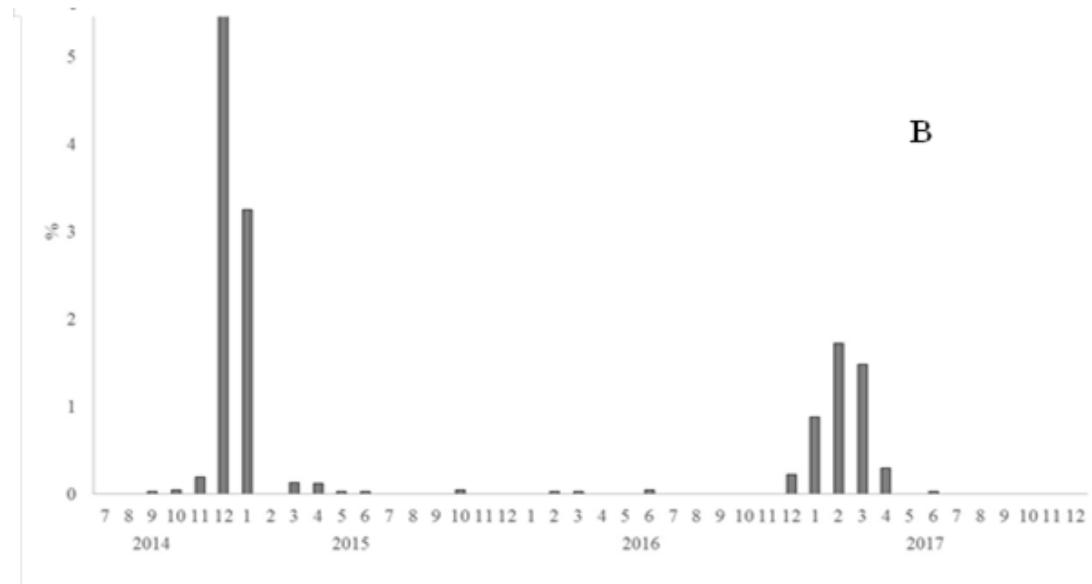
FACTOR, com a rotação da matriz Promax, sendo os dados previamente padronizados pelo procedimento STANDARD do pacote estatístico SAS® (SAS, 2002).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um total de 166.488 amostras de leite oriundas de compartimentos de tanques isotérmicos de caminhões, 528 apresentaram acidez titulável (AT) menor que 14°D, representando 0,32% das amostras. Houve uma grande variação na prevalência nos anos estudados (Figura 6), sendo 0,97% em 2014, 0,30% em 2015, 0,03% em 2016 e 0,32% em 2017, assim como entre dias (Figura 6A) e meses (Figura 6B).

Figura 6 – Percentagem diária de compartimentos isotérmicos de caminhões tanque com acidez titulável do leite <14°D (A) e percentagem mensal com acidez titulável do leite <14°D (B) (N = 166.448).

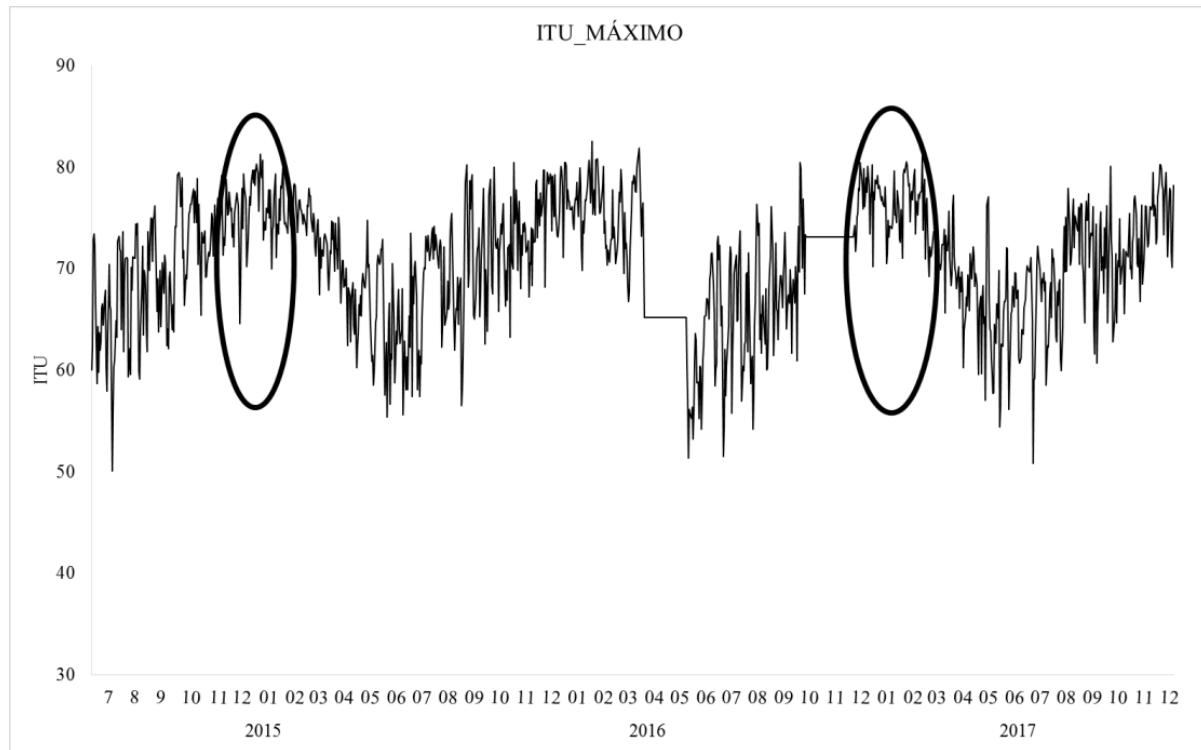




Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A ocorrência de leite com baixa AT ocorreu predominantemente nos verões de 2014/2015 e 2016/2017 (Figura 6), coincidindo com períodos com elevado Índice de Temperatura e Umidade (ITU) (Figura 7).

Figura 7 - Índice de Temperatura e Umidade (ITU) máximo no período de estudo, destacando os dois períodos de maior prevalência de baixa acidez titulável.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

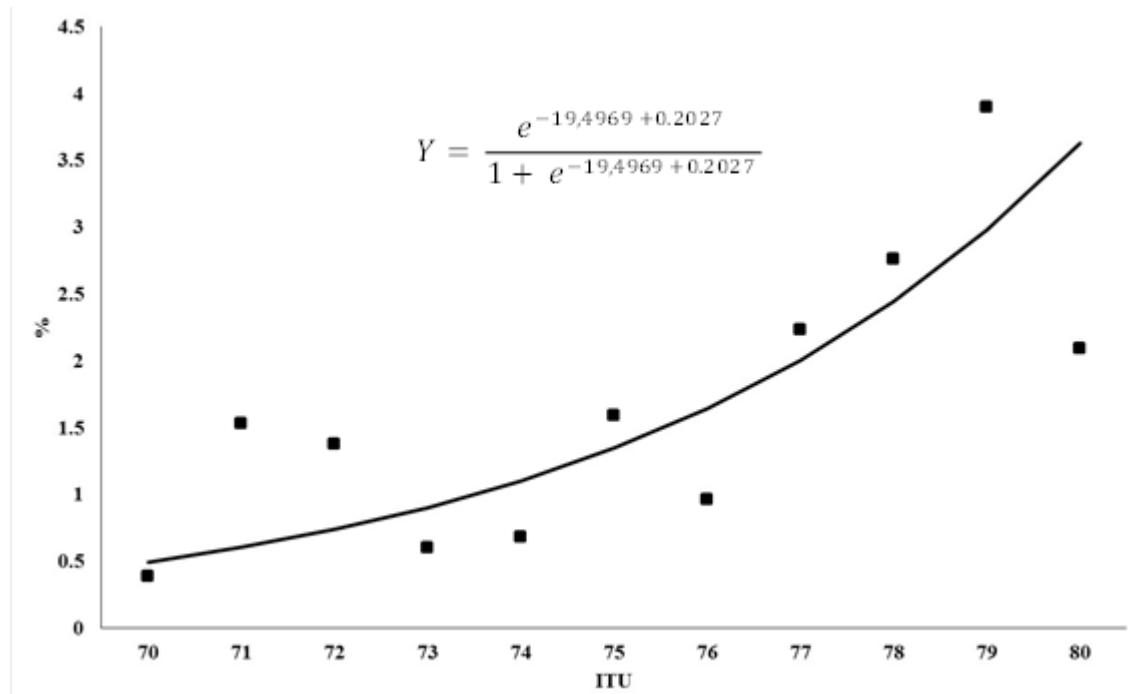
O melhoramento genético e as técnicas de manejo visam fornecer melhores condições na produção dos bovinos leiteiros. Como consequência as vacas especializadas em produção leiteira são sensíveis ao estresse térmico. Estes fatos ocorrem devido a função produtiva destas vacas ser cada vez mais especializada e devido a melhoria na eficiência alimentar (BACCARI JUNIOR, 1986; VANDEHAAR et al., 2016). Assim, a produção de leite sofre interferências, associadas ao próprio animal e fatores ambientais, como: temperatura ambiente, radiação solar e umidade relativa do ar, e quando submetidos juntamente ao calor metabólico, originando estresse térmico.

A associação da umidade relativa e da temperatura do ar propicia um indicador de conforto térmico, chamado Índice de Temperatura e Umidade (ITU). Os estudos e análises deste índice auxiliam na indicação de situações de conforto e desconforto térmico em que os animais estão submetidos (AZEVEDO, 2005). Rosenberg, Blad e Verma (1983) classificam o ITU entre 75 e 78 como alerta aos produtores (providências são necessárias para evitar perdas); de 79 a 83 como perigo, especialmente nos rebanhos confinados, caracterizando ITU superior a 84 como emergência.

Durante o período de julho de 2015 a dezembro de 2017 a média do ITU máximo diário foi de  $70,6 \pm 5,9$ , variando de 50 a 83 (Figura 7). Durante os períodos de maior prevalência de baixa AT, o ITU máximo apresentou variações de aproximadamente 70 a 80 (Figura 7), caracterizando uma situação de alerta e eventual perigo, de acordo com a classificação de Rosenberg et al. (1983).

Em uma análise de regressão logística do último período de alta prevalência (janeiro a março de 2017) entre o ITU máximo do dia anterior à chegada do leite na indústria e a percentagem de compartimentos de tanques isotérmicos de caminhões com baixa AT (Figura 8), observa-se um aumento expressivo da prevalência de baixa AT com o aumento do ITU, caracterizando assim a baixa AT como um fenômeno relacionado às condições de estresse térmico.

Figura 8 – Percentagem de tanques isotérmicos de caminhões de transporte com baixa acidez titulável (AT) <14ºD em função do Índice de Temperatura e Umidade (ITU) no dia anterior à coleta do leite, nos meses de maior ocorrência de baixa AT.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Os valores diários do ITU tem sido correlacionados negativamente com o consumo de alimentos (BOURAOUI et al., 2002). Fatores estressores ambientais podem não ter um efeito imediato sobre certas variáveis, como a ingestão de alimentos, com alterações ocorrendo e sendo perceptíveis nas amostras de leite alguns dias após (WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003; SPIERS et al., 2004), havendo assim a necessidade de estudos sobre a dinâmica do efeito ambiental sobre a composição e os parâmetros físicos do leite.

Nas análises fatoriais dos dados das amostras dos compartimentos dos caminhões isotérmicos, no período de 01/07/2014 até 31/12/2017, assim como do conjunto de dados dos meses em que ocorreu a maior incidência de amostras com baixa AT, avaliaram-se as amostras com AT <14ºD e suas relações com a graduação ao teste do álcool em que a amostra apresentou instabilidade, suas relações com o componente gordura e com o índice crioscópico (IC) do leite. Assim sendo, gerou-se 2 fatores em cada análise. Na análise com o conjunto de dados completos (n 166.448) foram formados 2 fatores, os quais somados explicam 53,60% da variação total. Na análise com o conjunto de dados dos meses em que ocorreu a maior incidência de amostras com baixa AT (n 14.985) também se formaram 2 fatores, os quais somados explicam 55,50% da variação total (Tabela 1).

Tabela 1 – Cargas fatoriais e percentual da variância explicada pelos fatores em análise fatorial relacionando a acidez titulável com alguns indicadores de qualidade do leite.

VARIÁVEL	Conjunto completo de dados (n=166.448)		Conjunto com dados dos meses de maior frequência (n=14.985)	
	Fator 1	Fator 2	Fator 1	Fator 2
Instabilidade na graduação ao teste do álcool (%)	<b>0,73629</b>	-0,16400	<b>0,75471</b>	-0,11496
Gordura (%)	<b>-0,72226</b>	-0,19461	<b>-0,70469</b>	-0,13927
Acidez titulável do leite <14°D	-0,13445	<b>0,70718</b>	-0,18115	<b>0,76044</b>
Índice crioscópico (°H)	0,16140	<b>0,68878</b>	0,22010	<b>0,67949</b>
<b>VARIAÇÃO EXPLICADA (%)</b>	<b>27,8</b>	<b>25,8</b>	<b>28,7</b>	<b>26,8</b>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nas duas análises o segundo fator apresenta relação positiva entre a AT <14°D com o índice crioscópico (IC) do leite (Tabela 1), ou seja, amostras com baixa AT apresentam IC mais elevado. A crioscopia, ou IC é a medida do ponto de congelamento do leite, devendo estar entre -0,530°H a -0,550°H (BRASIL, 2011), sendo que valores mais baixos (mais afastados de zero) podem indicar maior quantidade de solutos no leite. A lactose e íons dissolvidos respondem por cerca de 80% da diminuição do IC (TÖPEL, 2015). A deficiência nos teores de lactose fica evidenciada ( $P <0,0047$ ) para amostras de leite conjunto de estabelecimentos rurais (Tabela 2) e fortemente evidenciada ( $P <0,0001$ ) para as amostras de leite de vacas individuais (Tabela 6).

A oferta alimentar disponibilizada às vacas também influencia, impactando sobre a elevação do IC do leite. No entanto, somente em casos de fome extrema ocorrem situações deste aspecto, isoladamente, elevar o IC acima do regulamentado (THALER NETO et al., 2017). Dietas desequilibradas, com baixa energia, deficiência de minerais ou excesso de proteína, podem levar ao maior IC (TÖPEL, 2015; BOWMAN; GILL; REYNOLDS, 2005).

Nas análises de leite conjunto dos estabelecimentos rurais com baixa AT, detectada a partir das amostras coletadas dos compartimentos isotérmicos de caminhões tanque que chegaram na plataforma da indústria parceira no período de janeiro a maio de 2017, a AT média foi de 12,7°D, contra 14,72°D dos estabelecimentos rurais testemunhos (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias ± erros-padrão da média (EPM) e valores de P dos indicadores de qualidade do leite em função da acidez titulável das amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais.

VARIÁVEL	Acidez Titulável		EPM	VALOR P*
	<14ºD	≥14ºD		
Acidez titulável do leite (ºD)	12,70	14,72	-	-
Ph	<b>6,87<sup>a</sup></b>	<b>6,75<sup>b</sup></b>	0,08	<0,0008
Gordura (%)	3,83	3,86	0,42	<0,8503
Proteína (%)	3,10	3,21	0,18	<0,1140
Caseína (%)	2,33	2,45	0,19	<0,0904
Caseína/proteína (%)	74,94	76,18	2,61	<0,1046
Gordura/proteína (%)	1,23	1,20	0,10	<0,3372
Lactose (%)	<b>4,25<sup>b</sup></b>	<b>4,39<sup>a</sup></b>	0,12	<0,0047
Extrato seco total (%)	12,19	12,47	0,57	<0,1957
Extrato seco desengordurado (%)	8,36	8,61	0,23	<0,0062
Índice crioscópico (ºH)	<b>-0,537<sup>a</sup></b>	<b>-0,544<sup>b</sup></b>	0,00511	<0,0009
Contagem células somáticas log10 (cel./mL)	5,78	5,93	0,35	<0,2497
Contagem padrão em placas log10 (UFC/mL)	5,12	5,37	0,96	<0,4919
Nitrogênio ureico no leite (mg/dL)	<b>8,85<sup>b</sup></b>	<b>12,51<sup>a</sup></b>	4,25	<0,0284
Instabilidade na graduação ao teste álcool (%)	75,73	76,14	1,64	<0,5074

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Assim como nas análises com amostras de leite dos compartimentos de tanque isotérmicos de caminhões (Tabela 1) as amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais com baixa AT apresentaram IC maior (Tabela 2 - P <0,0009). Apesar da crioscopia estar maior, a mesma encontra-se dentro da faixa normatizada (-0,530 a -0,550ºH) (BRASIL, 2011). Destaca-se também as baixas concentrações de lactose (P <0,0047) e consequentemente de ESD (P <0,0062) e NUL (P <0,0284), sendo que, para este último indicador, os valores médios dos estabelecimentos rurais de baixa AT, foi de 8,85 mg/dL. Além destes indicadores houve uma leve tendência de menores teores de caseína nas amostras de leite com baixa AT (P <0,0904). A relação observada entre estas variáveis normalmente estão relacionadas às inadequadas condições dos padrões zootécnicos e de manejo e alimentação ofertado às vacas.

Os componentes do leite sofrem alterações pela dieta fornecida aos animais, assim como também se modificam por fatores não nutricionais, influenciando no padrão desejável dos constituintes do leite (ANDRADE et al., 2014). Os teores médios ideais de nitrogênio ureico para produção de leite de qualidade devem estar entre 11-16 mg/dL de leite (CAMPOS, 2002). Algumas pesquisas evidenciam o fato de que os altos níveis de proteínas totais do leite são oriundos do aumento de proteínas de origem não caséicas, enquanto que as caseínas reduzem levemente (POLITIS; NG-KWAI-HANG, 1988).

As amostras de leite de vacas individuais do grupo de baixa AT (Tabela 6) apresentaram menor teor de proteína. Leite com esta condição apresenta menor teor de caseína, aspecto que pode estar associado com carência alimentar e, ou, dieta deficitária (OLIVEIRA et al., 2007). Verifica-se relação negativa entre as condições alimentares disponibilizadas as vacas em lactação, ou seja, o aporte nutricional deficiente influencia negativamente na secreção de componentes do leite, impactando no leite conjunto dos estabelecimentos rurais, como demonstrado com os teores de gordura, proteína e lactose (Tabela 2 – amostras da classe AT <14°D). Estes aspectos ressaltam a importância do adequado suprimento energético no viés de sustentar a produção e a síntese dos componentes lácteos. Destaca-se que não houve diferença entre os estabelecimentos rurais de baixa AT e aqueles de AT dentro da normalidade, para as variáveis CCS e CPP ( $P > 0,10$ ) (Tabela 2).

Para a variável CCS, nas amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais de baixa AT, foi encontrado valor médio de 957.300 cel./mL. Já para os estabelecimentos rurais com amostras de leite conjunto apresentando AT dentro da normalidade o valor para a variável CCS foi de 1.039,00 cel./mL. Com relação à CPP, nas amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais de baixa AT, foi encontrado valor médio de 936.000 UFC/mL. Já para os estabelecimentos rurais com amostras de leite conjunto apresentando AT dentro da normalidade o valor médio da variável CPP foi de 1.184,00 UFC/mL.

A análise fatorial para avaliar a relação da AT com os indicadores da composição, CCS, e CPP das amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais gerou 3 fatores (Tabela 3), os quais somados explicam 73,23% da variação total, sendo que as comunidades demonstram a relevância de cada variável utilizada nesta análise. O primeiro fator apresenta uma relação altamente positiva entre o teor de lactose, a AT do leite e a concentração de NUL e a relação contrária com o IC, o que significa que baixos valores de AT estão relacionadas à menor concentração de lactose e NUL, com maior IC. Observa-se uma relação contrária entre as três variáveis anteriormente citadas com a variável crioscopia. O segundo fator apresenta relação altamente positiva entre os teores de gordura e proteína do leite. O terceiro fator

apresenta relação altamente positiva entre a CPP e CCS do leite, com relação contrária, porém fraca, com o componente lactose. Os resultados da análise fatorial estão em consonância com a análise de variância (Tabela 2).

Tabela 3 – Análise fatorial entre acidez titulável, indicadores da composição, nitrogênio ureico no leite, índice crioscópico, contagem padrão em placas e contagem de células somáticas das amostras de leite conjunto dos estabelecimentos rurais.

VARIÁVEL	FATORES			COMUNALIDADES
	1	2	3	
Lactose (%)	<b>0,83342</b>	-0,19354	<b>-0,29676</b>	76,3
Acidez titulável do leite (°D)	<b>0,8215</b>	0,05497	0,09008	71,2
Nitrogênio ureico no leite (mg/dL)	<b>0,56756</b>	0,19092	0,09321	40,8
Índice crioscópico (°H)	<b>-0,74862</b>	-0,01624	-0,17933	62,3
Gordura (%)	-0,16531	<b>0,91518</b>	-0,02138	82,6
Proteína (%)	0,28162	<b>0,88677</b>	-0,06525	89,3
Contagem padrão em placas log10 (UFC/mL)	0,06853	-0,18548	<b>0,92476</b>	82,9
Contagem células somáticas log10 (cel./mL)	0,01925	0,1231	<b>0,85955</b>	80,4
<b>VARIANCIA EXPLICADA (%)</b>	<b>33,39</b>	<b>22,21</b>	<b>17,63</b>	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Embora as variáveis apresentadas nos próximos dois parágrafos não tenham apresentado diferenças estatísticas, as mesmas serão detalhadas de forma descritiva, visando melhor situar o leitor a despeito da caracterização dos estabelecimentos rurais envolvidos no estudo. Apresentavam área média e desvio-padrão de  $32,55 \pm 22,54$  hectares (ha), variando de 7,2 a 102 ha, representando aproximadamente a área de dois módulos rurais (30 ha), o que os enquadra na média como pequenos produtores (MELLO; SCHIMIDT, 2003). Desta área, em média,  $16,26 \pm 11,05$  ha, variando de 4,0 a 50 ha, foram utilizadas para a produção de leite, computando-se aí, inclusive as áreas destinadas ao pastejo e áreas de produção de volumosos. Os produtores possuem em média  $18,41 \pm 12,63$  vacas em lactação, variando de 5 a 62 vacas em ordenha. Com relação ao quantitativo total de vacas destinadas à produção leiteira, os produtores possuem em média  $23,10 \pm 13,42$  vacas, variando de 10 a 68 vacas com aptidão leiteira nos rebanhos.

Quanto ao grau racial, as vacas estavam distribuídas na proporção de 100 vacas da raça Holandesa, 13 da raça Jersey, 23 vacas mestiças ½ Jersey x ½ Holandês, seis da raça Girolanda e, por fim, 15 sem grupamento genético definido. A relação entre as vacas em lactação e vacas destinadas à produção leiteira apresenta a percentagem média de  $77,88 \pm 15,30$ , variando de 32,30 a 100%. A produção média diária de leite informada pelos produtores foi de  $285,36 \pm 260,63$  kg, variando de 25 a 950 kg. Com relação à produção de leite por vaca por dia, a média foi de  $13,30 \pm 4,54$  kg, variando de 5 a 25 kg. No aspecto de fornecimento de concentrado, os produtores informaram que forneciam em média por dia,  $5,38 \pm 2,32$  kg, o que representa uma relação de  $2,63 \pm 1,11$  kg de leite produzido por kg de concentrado fornecido, com variação de 0,80 a 7,30. Por fim, das variáveis avaliadas, os produtores relataram que a coleta de leite ocorre em média a cada  $1,62 \pm 0,50$  dias, variando o intervalo de coleta do leite entre o mínimo de 1 dia e o máximo de 2 dias.

Amostras de leite dos estabelecimentos rurais com baixa AT e também aqueles com AT normal não diferiram nos seus aspectos estruturais (Tabela 4), o que decorre do modelo experimental adotado em que foram utilizados os estabelecimentos rurais testemunhos, com localização, tamanho de estabelecimento rural e modelo de produção similares às dos estabelecimentos rurais com baixa AT. Entretanto, os estabelecimentos rurais com baixa AT tiveram menor eficiência de utilização do alimento concentrado em produção de leite (Tabela 4) e tendência de menor utilização de silagem (Tabela 5), aspecto que, quando associado à baixa concentração de NUL (Tabela 2) pode ser um reflexo da falta de balanceamento das dietas do rebanho (Tabela 5).

Tabela 4 – Médias ± erros-padrão da média (EPM) e valor de P dos indicadores de estrutura dos estabelecimentos rurais, dados zootécnicos e fornecimento de alimentos concentrados.

VARIÁVEL	GRUPOS		EPM	VALOR P
	Acidez Titulável <14°D	Acidez Titulável ≥14°D		
Área total (ha)	32,45	32,66	22,54	<0,9795
Área leite (ha)	15,60	16,96	11,05	<0,7422
Vacas em lactação	16,73	20,21	12,63	<0,4647
Vacas total	20,67	25,71	13,42	<0,3204
Vacas lactação/vacas total (%)	77,68	78,09	15,30	<0,9426
Produção leite/dia (Kg)	245,00	325,71	260,63	<0,42
Produção vaca/dia (Kg)	11,84	14,75	4,54	<0,1019
Concentrado (kg/dia)	5,50	5,25	2,32	<0,7745
Leite/concentrado (Kg/Kg)	2,10	3,13	1,11	<0,0238
Coleta leite (Dias)	1,60	1,64	0,50	<0,8202

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Tabela 5 – Número e percentagem de estabelecimentos rurais que adotam diferentes técnicas de manejo e valor de P.

VARIÁVEL	GRUPO	CLASSE	N	%	VALOR P**
Aplica Pré-dipping	Acidez titulável normal	Sim	7	50	<0,8575
		Não	7	50	
	Baixa acidez titulável	Sim	8	53,33	
		Não	7	46,67	
Aplica Pós-dipping	Acidez titulável normal	Sim	12	85,71	<0,4108
		Não	2	14,29	
	Baixa acidez titulável	Sim	11	73,33	
		Não	4	26,67	
Fornece silagem de milho	Acidez titulável normal	Sim	13	92,86	<0,0819
		Não	1	7,14	
	Baixa acidez titulável	Sim	10	66,67	
		Não	5	33,33	
Concentrado formulado	Acidez titulável normal	Sim	11	78,57	<0,0351
		Não	3	21,43	
	Baixa acidez titulável	Sim	6	40	
		Não	9	60	
Condição corporal vacas*	Acidez titulável normal	Boa	10	71,43	<0,7818
		Ruim	4	28,57	
	Baixa acidez titulável	Boa	10	66,67	
		Ruim	5	33,33	

\* Condição corporal média das vacas do rebanho, classificada como boa ou ruim

\*\* Teste de  $\chi^2$

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Nas análises das 157 amostras de leite individual de vacas a AT média foi de 12,21ºD, para AT <14ºD, contra 15,31ºD para AT ≥14ºD (Tabela 6).

Tabela 6 – Médias ± erros-padrão da média (EPM) e valor de P dos indicadores de qualidade do leite em função da acidez titulável das amostras de leite individual de vacas.

VARIÁVEL	Acidez Titulável		EPM	VALOR P*
	<14ºD	≥14ºD		
Acidez titulável do leite (ºD)	12,21	15,31	-	-
pH	<b>6,85<sup>a</sup></b>	<b>6,76<sup>b</sup></b>	0,09	<0,0001
Gordura (%)	3,99	3,67	1,03	<0,0872
Proteína (%)	3,17	3,15	0,43	<0,7925
Caseína (%)	2,38	2,38	0,43	<0,9423
Caseína/proteína (%)	74,77	75,25	3,48	<0,4305
Gordura/proteína (%)	1,25	1,16	0,27	<0,0558
Lactose (%)	<b>4,10<sup>b</sup></b>	<b>4,41<sup>a</sup></b>	0,33	<0,0001
Extrato seco total (%)	12,29	12,24	1,34	<0,8062
Extrato seco desengordurado (%)	<b>8,31<sup>b</sup></b>	<b>8,56<sup>a</sup></b>	0,51	<0,0049
Índice crioscópico (ºH)	<b>-0,536<sup>a</sup></b>	<b>-0,541<sup>b</sup></b>	0,008	<0,0016
Contagem células somáticas log10 (cel./mL)	<b>5,65<sup>a</sup></b>	<b>5,32<sup>b</sup></b>	0,63	<0,0028
Cloretos (proporção de vacas positivas)	<b>0,351<sup>a</sup></b>	<b>0,065<sup>b</sup></b>	0,43	<0,0002
Nitrogênio ureico no leite (mg/dL)	8,72	9,46	5,30	<0,4268
Instabilidade na graduação ao teste álcool (%)	74,72	75,41	2,11	<0,0627
Dias em lactação	<b>184,79<sup>a</sup></b>	<b>138,25<sup>b</sup></b>	78,83	<0,0021
Ordem de parto	3,77	3,33	1,66	<0,1529
<b>NÚMERO OBSERVAÇÕES</b>	<b>111</b>	<b>46</b>		

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

As amostras de leite individual de vacas com baixa AT apresentaram pH mais elevado (Tabela 6 - P <0,0001). Destaca-se também as baixas concentrações de lactose (P <0,0001) e consequentemente forte tendência em apresentar teores de ESD menores (P <0,0049). Além destes indicadores os estabelecimentos rurais com baixa AT apresentaram forte tendência no IC maior (P <0,0016). Nos estabelecimentos rurais com baixa AT do leite as variáveis CCS e a proporção de vacas positivas na prova qualitativa para cloretos (P <0,0002) indicam considerável tendência na aplicação de piores condições de manejo geral da CCS (P <0,0028). Ademais, embora não significativo estatisticamente, as amostras de leite com baixa AT apresentaram menor estabilidade na graduação ao teste do álcool. Destaca-se também, não

haver diferença estatística entre os valores encontrados nas amostras com baixa AT e nas amostras com a variável AT na normalidade, para os níveis de NUL ( $P < 0,4268$ ) e também na variável ordem de parto ( $P < 0,1529$ ) (Tabela 6).

Na pesquisa de cloretos em leite um resultado positivo não significa necessariamente fraude por adição de cloretos à amostra. Pode significar que a concentração de cloretos na amostra é superior à quantidade normalmente encontrada em animais sadios (0,08% a 0,1%). Diversos fatores influenciam no teor de cloretos no leite, tais como diferenças individuais, alimentação, estado de hidratação, raça, espécie, número de lactações, variações diurnas, estágio de lactação, sazonalidade, além de alterações patológicas. Conforme avança o período de lactação, o teor de cloretos pode também elevar-se (Tabela 6 –  $P < 0,0021$ ).

Uma das causas com importante impacto prejudicial sobre a composição e características físico-químicas do leite é a mastite. Atua afetando a saúde da glândula mamária, exercendo influência na elevação da CCS do leite (HARDING, 1995; LARANJA, 1998; BARROS, 2011). Esta maior CCS influencia a composição do leite e a qualidade dos seus derivados (KITCHEN, 1981; HARDING, 1995; LARANJA, 1998) refletindo em alterações nos processos tecnológicos (HARDING, 1995; SABEDOT et al., 2014; RIBEIRO JUNIOR et al., 2015; MATTIELLO et al., 2018 – no prelo). Algumas das alterações da alta CCS incluem aumento dos íons sódio, cloro (KITCHEN, 1981), pH (BARROS, 2011), imunoglobulinas e outras proteínas séricas (KITCHEN, 1981), redução dos teores de caseína, gordura (GONZALEZ et al., 2011; BARROS, 2011), lactose (CARVALHO, 2002; BARROS, 2011; SABEDOT et al., 2014; ALESSIO et al., 2016) potássio, cálcio (KITCHEN, 1981), fósforo e AT do leite (RODRIGUES; FONSECA; SOUZA, 1995).

A relação negativa entre a CCS, a AT e os teores de lactose (Tabela 6), pode ser explicada devido a maior permeabilidade vascular, oriunda das injúrias da reação inflamatória nas células especializadas da glândula mamária (MATIOLI et al., 2000; PESSOA et al., 2012; RIBAS et al., 2015), o que acarreta na saída de lactose da luz da glândula mamária para a corrente sanguínea (BENCHEDLY et al., 2009), devido à diminuição da coesão entre as junções firmes das células secretoras (STUMPF et al., 2013) e, também, devido a redução da síntese de lactose (RIBAS et al., 2015). Desta forma, as alterações na composição do leite o tornam mais semelhante à composição do sangue (RODRIGUES; FONSECA; SOUZA, 1995). A relação entre elevada CCS e baixa AT concorda com as informações descritas por vários autores de que a mastite, mesmo na forma subclínica, reduz a AT do leite (GRANDISSON; FORD, 1986; MATIOLI et al., 2000; BRITO et al., 2012; DRINC, 2015). Por outro lado, a concentração de potássio e cálcio diminui no leite, pois estes constituintes do

leite, devido às mudanças de permeabilidade migram para o sangue (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007). Essas alterações também refletem em um aumento no pH (Tabela 6 - P <0,0001) e na condutividade elétrica do leite, devido ao aumento da concentração de sódio e cloretos (Tabela 6 - P <0,0002 ) no leite.

Estudos sobre os efeitos da CCS na composição do leite são divergentes, devido ao fator CCS não ser facilmente isolado dos demais fatores de variabilidade da composição do leite (VIANNA et al., 2008). Estudo conduzido por Teixeira, Freitas e Barra (2003) descreve a média dos teores de gordura e proteína do leite relativamente constantes com o aumento da idade ao parto, decrescendo com vacas parindo a partir de 5,5 a 6 anos. Noro et al. (2006) relatam que a idade ao parto afeta o teor de proteína do leite, com maior teor nas vacas com partos de 33 a 45 meses de idade e menor nas vacas de primeiro parto. O teor de gordura do leite apresentou valores mais baixos nas vacas com menor idade ao parto, e, de modo oposto, maior teor nos animais com idade ao parto maiores, sendo que, o teor da lactose reduz a medida que avança a idade da vaca (NORO et al., 2006). No presente estudo, os valores discordam dos achados de Teixeira, Freitas e Barra (2003), e concordam com os estudos de Noro et al. (2006). Quanto mais se estende o período da lactação, mais elevados são os teores de gordura no leite (AGANGA; AMARTEIFIO; NKILE, 2002; NORO et al., 2006). Para Birgel (2006), os teores de gordura, proteína e lactose são menores nos três primeiros meses de lactação. Para Dukes (1993) conforme o estágio de lactação evolui ocorre incremento nos teores de gordura e proteína do leite (Tabela 6).

Quanto ao teste da AT do leite, destacam-se as amostras de leite daquelas vacas com maior ordem de parto como sendo as que apresentam menor titulação em °D. Problemas relacionados à estabilidade do leite ao teste do álcool foram, por muito tempo, ignorados ou confundidos com os relacionados à acidez elevada (RIBEIRO et al., 2011) oriunda da fermentação da lactose por microrganismos incorporados ao leite (SILVA et al., 2012).

Nas amostras de leite com baixa AT (Tabela 6) verificou-se menor estabilidade do leite frente ao teste do álcool (74,72 °GL), maior NUL, desbalanceamento fino da relação gordura/proteína do leite (embora não significativos estatisticamente) e maior DEL (P <0,0021). As relações entre estas variáveis indicam situações inadequadas, ou de piores condições dos padrões zootécnicos, de manejo e da alimentação fornecida às vacas (Tabela 6).

A produção de leite com menores teores de gordura, lactose e menor estabilidade do leite ao teste do álcool pode estar relacionado com aporte nutricional deficiente. Ao suprir as demandas nutricionais, obtém-se melhores condições ao atendimento da disponibilidade de nutrientes à produção e composição do leite. No mesmo sentido ocorre com a estabilidade do

leite, ou seja, quanto mais adequado o balanço nutricional, em especial o energético, maior será a estabilidade do leite ao teste do álcool. Em um estudo realizado no Chile, Barchiesi-Ferrari, Williams Salinas e Salvo-Garrido (2007) observaram produção de leite com baixa estabilidade como sendo proveniente de estabelecimentos rurais com inadequada alimentação aos animais, tanto em qualidade, quanto em quantidade. Outros pesquisadores divulgaram relação positiva entre a nutrição melhor manejada e a estabilidade do leite ao teste do álcool (ZANELA et al., 2006; MARQUES et al., 2010; STUMPF et al., 2013; GABBI et al., 2013).

Tabela 7 – Análise fatorial entre acidez titulável, indicadores da composição, nitrogênio ureico no leite, índice crioscópico, contagem de células somáticas e dias em lactação das amostras de leite individual das vacas.

VARIÁVEL	FATORES			COMUNALIDADES
	1	2	3	
Lactose (%)	<b>0,77439</b>	-0,25112	0,07097	76,3
Acidez titulável do leite (°D)	<b>0,76199</b>	0,21478	-0,02076	53,7
Nitrogênio ureico no leite (mg/dL)	-0,00866	-0,10462	<b>0,86724</b>	70,6
Índice crioscópico (°H)	<b>-0,49404</b>	-0,18749	<b>-0,53103</b>	58,6
Gordura (%)	0,01461	<b>0,92877</b>	-0,15978	79,0
Proteína (%)	-0,05886	<b>0,74388</b>	0,27624	78,2
Contagem células somáticas log10 (cel./mL)	<b>-0,61586</b>	0,18309	-0,10841	47,6
Dias em lactação	<b>-0,58081</b>	0,05597	<b>0,50019</b>	61,1
<b>VARIANCIAS EXPLICADAS (%)</b>	<b>32,68</b>	<b>22,20</b>	<b>10,75</b>	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A análise fatorial para avaliar a relação da AT com os indicadores da composição, CCS e DEL das amostras de leite individual das vacas gerou 3 fatores (Tabela 7). Estes fatores, somados explicam 65,63% da variação total e, as comunidades demonstram a relevância de cada variável utilizada nesta análise.

O primeiro fator apresenta uma relação altamente positiva entre os teores de lactose, AT do leite, com relação contrária com a variável crioscopia, CCS e DEL. O segundo fator apresenta relação altamente positiva entre os teores de gordura e proteína do leite. O terceiro fator apresenta relação positiva entre o teor de NUL com a variável DEL, com relação contrária, com a variável que mede o índice crioscópico do leite (Tabela 7).

## 4 CONCLUSÕES

A ocorrência de baixa acidez titulável no leite é um fenômeno sazonal, associado a períodos de elevado Índice de Temperatura e Umidade.

A baixa acidez titulável do leite está relacionada as situações de índice crioscópico maior, no entanto, dentro dos padrões normatizados, tanto em amostras de leite individual de vaca quanto de leite conjunto dos estabelecimentos rurais.

Situações de baixa acidez titulável em nível de leite conjunto dos estabelecimentos rurais estão associadas aos menores teores de lactose.

Vacas que secretam leite com baixa acidez titulável apresentam estágio de lactação mais avançado, maior CCS, com expressiva redução no teor de lactose, com maior probabilidade de apresentar reação positiva para a presença de cloreto.

A baixa acidez titulável é mais frequente em estabelecimentos rurais menos tecnificados em termos de manejo alimentar, sendo aqueles com baixos teores de nitrogênio ureico no leite.

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), pela cedência dos dados da estação meteorológica de observação de superfície automática do município Joaçaba, para a realização do estudo retrospectivo histórico temporal das condições meteorológicas.

A Indústria parceira Lacticínios Tirol LTDA. A todos os envolvidos, pelo apoio ímpar, confiança e suporte ofertados na realização deste estudo científico.

## REFERENCIAS

AGANGA, A. A.; AMARTEIFIO, J. O.; NKILE, N. Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. **Journal of Composition and Analysis**, London, v. 15, n. 5, p. 533-543, 2002.

ALESSIO, D. R. M. et al. Multivariate analysis of the lactose content in milk of Holstein and Jersey cows. **Semina: Ciências Agrárias** (Impresso), v. 37, p. supl. 1-2629, 2016.

ANDRADE, K. D. et al. Qualidade do leite bovino nas diferentes estações do ano no estado do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niteroi, v. 21, n. 3, p. 213-216, 2014.

APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products.** 16th ed. Washington: APHA, 1992.

AZEVEDO, M. de et al. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, 2005.

BACCARI JUNIOR, F. Manejo ambiental na produção de leite nos trópicos. In: CICLO INTERNACIONAL DE PALESTRAS SOBRE BIOCLIMATOLOGIA ANIMAL, 1., 1986, Botucatu. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1989, p. 45-53.

BARCHIESI-FERRARI, C.G.; WILLIAMS SALINAS, P. A.; SALVO-GARRIDO, S. I. Inestabilidad de la leche asociada a componentes lácteos y estacionalidad en vacas a pastoreo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1785-1791, 2007.

BARROS, R. A. **Produção familiar de leite e de saber: a extensão rural no controle da mastite e qualidade do leite na APA Coqueiral, MG.** 2011. 171 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Faculdade, Lavras. 2011.

BENCHEDLY, H. et al. Cell junction disruption after 36h milk accumulation was associated with changes in mammary secretory tissue activity and dynamics in lactating dairy goats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, n. 3, p. 105-111, 2009.

BIRGEL JR., E. H. **Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Gir e Girolando criados no Estado de São Paulo.** 2006. 335 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BOURAOUI, R. et al. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. **Animal Research**, v. 51, p. 479–491, 2002.

BOWMAN, M; GILL, R.; REYNOLDS, C. **Significance of nutritional effects on the freezing point of milk.** Ontario: Agri-Business Association Nutrition Committee, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2017.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 7 de 04/05/2016. Aprova os Regulamento Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**. Brasília/DF, 04 de maio de 2016.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução de Serviço. Laboratório Nacional Agropecuário. Divisão Técnica Laboratorial. **Laboratório de Referência à RBQL e Controle da Qualidade do Leite**. Pedro Leopoldo/MG, 2016.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p. 8, 2011.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. **MAPA**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/servlet/VisualizarAnexo?id=3335>>. Acesso em: 14 maio 2008.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos físico químicos para controle de leite e produtos lácteos**. Instrução Normativa 68, 12/12/06. Brasília: Ministério da Agricultura, 2006.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. **Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite**. Instrução Normativa 51, 18/09/02. Brasília: Ministério da Agricultura, 2002.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 37 de 18/04/2002. Instituir a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite. **Diário Oficial da União**. Brasília/DF, 18 de abril de 2002a.

BRITO, M. A. et al. **Acidez titulável**. Agência de Informação Embrapa, 2012. Disponível em <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_194\\_21720039246.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_194_21720039246.html)> Acesso em: 05 fev. 2015.

CALDEIRA, L. A. et al. Caracterização do leite comercializado em Janaúba, MG. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 191-195, abr/jun. 2010.

CAMPOS, R. Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar a relação nutrição: fertilidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Gramado, RS. **Anais...** Gramado, 2002. p.40-48.

CARVALHO, G. F. Milk yield, somatic cell count and physicochemical characteristics of raw milk collected from dairy cows in Minas Gerais State. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Fepale, 2002. (CD-ROM).

DÍAS, M.; et al. Application of flow cytometry to industrial microbial bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 48, 2010.

DRINC (Dairy Research and Information Center). Department of Food Science & Technology University of California, Davis, CA. **Um resumo de acidez titulável**. Disponível em: <<http://drinc.ucdavis.edu/dairychem5.htm>> Acesso em: 06 fev. 2015.

DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.652-658.

EPAGRI. **Números da agropecuária catarinense**: 2017. Florianópolis: Epagri, 2017. (Epagri. Documentos, 277).

FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Outlook Fiesp 2024**: projeções para o agronegócio brasileiro. São Paulo: FIESP, 2014. Disponível em: <<http://apps2.fiesp.com.br/outlookDeagro/pt-BR>>. Acesso em: 16 fev. 2015.

GABBI, A. M. et al. Typology and physical-chemical characterization of bovine milk produced with different production strategies. **Agricultural Systems**, v. 121, p. 130-134, 2013.

GONZÁLEZ, F. D. et al. **Qualidade do leite bovino**: variações no trópico e no subtrópico. Passo Fundo: Ed. da UPF, 2011.

GRANDISSON, A. S.; FORD, G. D. Effects of variations in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield, composition and quality of cheddar cheese. **Journal of Dairy Research**, v. 53, n. 4, p. 645-655, 1986.

HAGUETTE, T. M. F. **Metodologias qualitativas na sociologia**. Petrópolis, RJ: Vozes, 1990.

HARDING, F. **Milk quality**. London: Blackie Academid & Professional, 1995.

HARRIS JUNIOR, B.; BACHAMAN, K. C. **Nutritional and management factors affecting solid-non-fat, acidity and freezing point of milk.** Gainesville, Institute of Food and Agricultural Sciences, Florida Cooperative Extension Service, 2003. Disponível em <<http://ufdcimages.uflib.ufl.edu/ir/00/00/47/70/00001/ds15600.pdf>> Acesso em 27 dez. 2017.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Censo Agropecuário de 2006.** Disponível em: <[www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/)>. Acesso em: 17 dez. 2017.

IDF (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION). **Milk enumeration of somatic cells, Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters.** Bruxelas, Belgium, 2006. (IDF Standard 148-2).

\_\_\_\_\_. **Milk quantitative determination of bacteriological quality:** Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results. Bruxelas, Belgium, 2004. (IDF Standard 196).

\_\_\_\_\_. **Whole milk:** determination of milkfat, protein and lactose content: Guidance on the operation of mid-infrared instruments. Bruxelas, Belgium, 2000. (IDF Standard 141C).

INTERNATIONAL STANDARD. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30°C. **ISO Standard, n. 4833.** Switzerland: International Standard, 2003.

KITCHEN, B. J. Reviews of the progress of dairy: milk compositional changes and related diagnostic testes. **Journal of Dairy Research**, v. 48, n. 1, p. 167-188, 1981.

LARANJA, L. F. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema de resfriamento. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998. Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba, p. 54-57, 1998.

MAPA/SDA/CGAL. Laboratório Nacional Agropecuário LANAGRO/RS. Laboratório de Produtos de Origem Animal Método de Ensaio – MET. **Determinação de acidez titulável em leite fluido.** p. 1 – 4. Emissão: 22 abr. 2013. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/ark\\_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%202020%2001%20Acidez%20em%20leite%20fluido.pdf](http://www.agricultura.gov.br/ark_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%202020%2001%20Acidez%20em%20leite%20fluido.pdf)>. Acesso em: 05 fev. 2015.

MARQUES, L. T. et al. Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 2724-2730, 2010.

MATIOLI, G. P. et al. Influência do leite proveniente de vacas mastíticas no rendimento de queijo Minas frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 54, n. 313, p. 38-45, 2000.

MATTIELLO, C. A. et al. Rendimento industrial, eficiência de fabricação e características físico-químicas de queijo colonial produzido a partir de leite com dois níveis de células somáticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2018. (no prelo).

MELLO, M. A.; SCHIMIDT, W. A agricultura familiar e a cadeia produtiva do leite no Oeste catarinense: possibilidades para a construção de modelos heterogêneos. In: PAULILO, M. I. S.; SCHIMIDT, W. **Agricultura e espaço rural em Santa Catarina**. Florianópolis, SC: UFSC, 2003. p. 71-98.

NORO, G. et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p.1129-1135, 2006.

OGOLA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, v. 8, n. 3, p. 237–242, 2007.

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

PESSOA, R. B. et al. Avaliação da apoptose de leucócitos polimorfo nucleares CH138+ em leite bovino de alta e baixa contagem de células somáticas: dados preliminares. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 3, p. 533-539, 2012.

POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Association between somatic cell count of milk and cheese-yielding capacity. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 7, p. 1720-1727, 1988.

POLSKY, L.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Invited review: effects of heat stress on dairy cattle welfare. **Journal of Dairy Science**. v. 100, n. 11, 2017.

RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1986-1997, 2009.

RIBAS, N. P. et al. Porcentagem de lactose em amostras de leite de tanque no Estado do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.20, n.3, p.48-58, 2015.

RIBEIRO, M. E. R. et al. Leite instável no sul do Rio Grande do Sul, importância econômica e social. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE LECHE INSTABLE, 2. 2011, Montevideo-UYI, Universidad de La Republica. **Anais...** Montevideo-UYI: Universidad de La Republica, 2011. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/902170/1/ANALISISICONFERENCIALECHEINESTABLE34.pdf>> Acesso em 17 dez. 2011.

RIBEIRO JUNIOR, J. C. et al. Quality of milk produced by small and large dairy producers. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 883-888, 2015.

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

ROSENBERG, N. J; BLAD, B. L; VERMA, S. B. **Microclimate**: the biological environment. 2.ed. New York: Wiley-interscience Publication, 1983.

SABEDOT, M. A. et al. Isolamento de bactérias causadoras de mastite subclínica e correlação entre qualidade físico-química do leite e contagem de células somáticas. **Revista Ciência Veterinária e Saúde Pública**, Umuarama, v. 1, n. 2, p. 99-106, 2014.

SANTA CATARINA. Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca. **Produção catarinense de leite aumenta 82% em dez anos**. Florianópolis, 16 jan. 2018. Disponível em: <<http://www.agricultura.sc.gov.br/index.php/noticias/627-producao-catarinense-de-leite-aumenta-82-em-dez-anos>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM). **Statistical analysis system user's guide: statistics**. Version 8.2, Cary: SAS Institute, 2002.

SILVA, L. C. C. et al. Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, n. 384, p. 55-60, 2012.

SPIERS, D. E. et al. Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. **Journal of Thermal Biology**, v. 29, n. 7, p. 759–764, 2004.

STUMPF, M. T. et al. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell “tight junctions” and reduces ethanol stability of milk. **Animal**. v.7, p. 1137-1142, 2013.

TEIXEIRA, N. M.; FREITAS, A. F.; BARRA, R. B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, 2003.

THALER NETO, A. et al. Pontos críticos da qualidade do leite. In: SIMPÓSIO NACIONAL DA VACA LEITEIRA, 4. 2017. Porto Alegre. **Anais....** Porto Alegre: UFRGS, 2017. p. 3-42.

THIOLLENT, M. **Metodologia da pesquisa-ação.** 7. ed. São Paulo: Cortez, 1996.

THOM, E. C. **The discomfort index Weatherwise**, v. 60, p. 12-57, 1959.

TÖPEL, A. **Chemie und physik der milch:** naturstoff, rohstoff, lebensmittel. Hamburg: Behr's Verla, 2015.

VANDEHAAR, M. et al. Harnessing the genetics of the modern dairy cow to continue improvements in feed efficiency. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 1–14, 2016.

VARGAS, D. P. et al. Correlações entre contagem bacteriana total e parâmetros de qualidade do leite. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.20, p.241-247, 2013.

\_\_\_\_\_ et al. Correlações entre contagem de células somáticas e parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade do leite. **Ciência Animal Brasileira**, v.15, p.473-483, 2014.

VIANNA, P. C. B. et al. Microbial and sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1743-1750, 2008.

WEST, J. W.; MULLINIX, B. G.; BERNARD, J. K. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 232–242, 2003.

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, p. 153-159, 2006.

## **CAPÍTULO IV – ARTIGO CIENTÍFICO**

### **VARIÁVEIS RELACIONADAS AO TEOR DE EXTRATO SECO DESENGORDURADO EM AMOSTRAS DE LEITE DE TANQUES DE RESFRIAMENTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS<sup>3</sup>**

Luís Carlos Arruda Junior<sup>1</sup>; Adriana Hauser<sup>1</sup>; Dileta Regina Moro Alessio<sup>1</sup>; Deise Aline Knob<sup>1</sup>; Marciel França<sup>1</sup>; Ivan Pedro de Oliveira Gomes<sup>1</sup>; André Thaler Neto<sup>1</sup>

---

<sup>3</sup>Artigo submetido a avaliação para publicação no Periódico Semina: Ciências Agrárias.

<sup>1</sup>Centro de Ciências Agroveterinárias-CAV- Universidade do Estado de Santa Catarina / Avenida Luiz de Camões, N°2090, Bairro Conta Dinheiro, Lages, Santa Catarina, CEP: 88.520-000, Brasil, +55 (49) 3289-9100.



**VARIÁVEIS RELACIONADAS AO TEOR DE EXTRATO SECO  
DESENGORDURADO EM AMOSTRAS DE LEITE DE TANQUES DE  
RESFRIAMENTO DE ESTABELECIMENTOS RURAIS**

**RESUMO:** O extrato seco desengordurado (ESD) compreende os constituintes sólidos do leite, excetuando-se a gordura, devendo apresentar teor mínimo estabelecido de 8,4% para leite cru no Brasil. Objetivou-se avaliar os efeitos da época do ano, do volume de leite comercializado pelos produtores, da contagem de células somáticas (CCS) e da contagem padrão em placa (CPP) sobre o teor de ESD em amostras de leite de estabelecimentos rurais, bem como analisar a relação destas variáveis entre si e com os teores de proteína e lactose. A amostragem contemplou dados de análises mensais de leite de estabelecimentos rurais fornecedores para quatro laticínios localizados nos Estados de Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul, sendo composta por 106.470 observações amostradas em 2015. Os dados foram analisados por técnicas de análises univariadas e multivariadas. Para avaliar a influência do volume de leite comercializado pelos produtores, nível de CCS e nível da CPP, sobre os teores de ESD ao longo do ano, os valores destas variáveis foram estratificados em quintis e análises separadas foram conduzidas para avaliar o efeito de cada uma destas variáveis. Os dados foram submetidos às análises de variância, canônica e de agrupamento, sendo as médias dos grupos comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. A média do ESD foi de 8,55%, sendo que 25,6% das amostras estavam abaixo do mínimo estabelecido. Revelou-se a existência de variação sazonal, com menores teores no outono e verão, especialmente relacionada ao teor de lactose e, no verão também ao teor de proteína. Quanto ao volume de leite comercializado pelos produtores, observou-se variação sazonal em todos os quintis de estabelecimentos rurais analisados, porém com teores mais baixos de ESD em amostras de leite de pequenos produtores ao longo de todo o ano. Amostras de leite com elevada CPP e, especialmente alta CCS, apresentaram menores percentuais de ESD durante o ano. A análise de agrupamento diferenciou os produtores em três grupos, sendo um formado por produtores maiores e dois por pequenos produtores, sendo que dentre estes grupos apenas um apresentava baixo ESD, especialmente relacionado às elevadas CCS e CPP. Conclui-se que a sazonalidade afeta o teor de ESD do leite, com contribuição importante do volume de produção, da CCS e da CPP.

**Palavras-chave:** Composição do leite. Lactose. Legislação. Proteína.

**VARIABLES RELATED TO THE CONTENT OF DRY DEFATTED EXTRACT IN  
MILK SAMPLES OF COOLING TANKS FRON RURAL ESTABLISHMENTS.**

**ABSTRACT:** The dry defatted extract (DDE) comprises the milk solid constituents, except for the fat, and have to present a minimum established content of 8.4% for raw milk in Brazil. The objective was to evaluate the effects of the season of the year, the volume of milk marketed by farmers, somatic cell counts (SCC) and standard plate count (SPC) on DDE content in milk samples from rural establishments as well as analyze the relation of these variables to each other and to protein and lactose levels. Sampling included monthly milk analysis data from dairy farmers suppliers for four dairy companies located in the states of Santa Catarina, Paraná and Rio Grande do Sul, and, was composed of 106.470 observations

sampled in 2015. Data were analyzed by univariate and multivariate analyzes. In order to evaluate the influence of milk volume commercialized by the farmers, SCC level and SPC level, on the levels of DDE throughout the year, the values of these variables were stratified in quintiles and separate analyzes were conducted to evaluate the effect of each one of these variables. The data were submitted to variance, canonical and cluster analysis, and the means of the groups were compared by the Tukey-Kramer test. The mean DDE was 8.55%, with 25.6% of the samples being below the established minimum. It was revealed the existence of seasonal variation, with lower levels in autumn and summer, especially related to the lactose content and, in the summer, also to the protein content. Regarding the milk volume marketed by farmers, seasonal variation was observed in all quintiles of rural establishments analyzed, but with lower levels of DDE in milk samples from small farmers throughout the year. Samples of milk with high SPC and, especially high SCC, presented lower percentage of DDE during the year. The cluster analysis differentiated the farmers into three groups, being that, one of them was composed by larger farmers and two by small farmers. Among these groups only one had low DDE, especially related to high SCC and SPC. It is concluded that seasonality affects the DDE content of milk, with an important contribution of the volume of production, the SCC and the SPC.

**Keywords:** Milk composition. Lactose. Legislation. Protein.

## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade do leite apresenta relevante importância para o rendimento industrial, bem como para a saúde pública, podendo ser avaliada através dos atributos físicos, químicos e microbiológicos. Neste sentido, a composição química deve ser analisada nos laticínios em atendimento ao estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Produtores e indústrias de laticínios de todo o país têm sido desafiados para alcançar os limites estabelecidos pelas normas de qualidade do leite, em especial a partir da publicação da Instrução Normativa 51/2002 pelo MAPA (BRASIL, 2002). Dentre os indicadores de composição, o extrato seco desengordurado (ESD), que compreende os constituintes sólidos do leite, excetuando-se a gordura, tem gerado preocupação a indústrias e produtores devido à ocorrência de amostras de leite com teores abaixo do mínimo legal estabelecido. Atualmente no Brasil o teor do ESD do leite deve corresponder no mínimo a 8,4% (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017). Porém, outros países têm adotado padrões mínimos de ESD distintos ao Brasil, como é o caso de 8,5% na União Europeia (MENECHINI, 2011) e 8,2% na Argentina (ARGENTINA, 2014). A ocorrência de amostras não conformes para ESD é substancial, sendo que Montanhini, Moraes e Montanhini Neto (2013) observaram 24,6% de amostras não conformes em leite de tanque de resfriamento, em um estudo com banco de dados no Estado do Paraná.

Segundo Harris Junior e Bachman (2003) o leite produzido individualmente ou por grupos de vacas da mesma raça apresenta uniformidade na sua composição, desde que estejam recebendo nutrição adequada em forragens e balanceada para os principais constituintes da dieta, ocorrendo, entretanto considerável amplitude de variação no teor de ESD em leite de vacas de agrupamentos raciais distintos. Em condições brasileiras ocorre normalmente elevada heterogeneidade, não somente em termos dos grupos genéticos utilizados, bem como, nos sistemas de produção adotados e no nível de alimentação oferecido aos animais, podendo levar a variações consideráveis na composição do leite. A flutuação da disponibilidade e qualidade dos alimentos volumosos que ocorre na maioria das propriedades leiteiras, com menor disponibilidade de alimento no outono contribui para a redução de lactose nesta época do ano (ALESSIO et al., 2016), podendo afetar os teores de ESD. Vacas submetidas a condições de estresse térmico também podem produzir leite com menores teores de lactose (WHEELOCK et al., 2010; TIAN et al., 2015) e proteína do leite (BERNABUCCI et al. 2002; WHEELOCK et al., 2010), levando à redução no teor de ESD. Fatores relacionados aos animais, também podem afetar o teor de ESD do leite, com diminuição no ESD com o avanço da idade das vacas. Para o estágio de lactação o teor do ESD é relativamente alto no primeiro mês, caindo no segundo e aumentando no avanço do estágio de lactação, devido à variação no teor de proteína (HARRIS JUNIOR; BACHMAN, 2003).

No Sul do Brasil predominam pequenos estabelecimentos rurais (WINCK; THALER NETO, 2012; GABBI et al., 2013; LANGE et al., 2016; WERNCKE et al. 2016), sendo que a maior diferenciação entre as pequenas propriedades leiteiras se dá pelas estratégias de alimentação das vacas (GABBI et al., 2013). Deste modo, variações consideráveis na composição do leite podem ser esperadas.

Patologias como mastite clínica e subclínica podem levar a um declínio no percentual de ESD, relacionado principalmente à redução do teor de lactose (ALESSIO et al., 2016). A redução do teor de lactose em função da mastite subclínica, indicada pela elevada CCS, deve-se a fatores tais como mudanças na homeostase da glândula mamária (PESSOA et al., 2012) e aumento na concentração plasmática de lactose (BENCHEDLY et al., 2009), devido à diminuição da coesão entre as junções firmes das células secretoras (STUMPF et al., 2013). De modo semelhante a qualidade microbiológica do leite também pode afetar a concentração de ESD no leite, visto que a lactose, como carboidrato principal do leite, é uma fonte importante para o consumo dos microrganismos (BLUM et al., 2008), podendo a contaminação microbiana reduzir o teor de lactose. As maiores variações nos teores de ESD do leite estão atreladas as mudanças no teor de proteína e ou de lactose no leite das vacas, no

tanque de resfriamento ou individualmente. Estas alterações podem ocorrer, por exemplo, ao se manipular a dieta dos animais nas distintas estações do ano, visando-se o aporte crescente de nutrientes ofertados aos animais lactantes (ROSA et al., 2012). De acordo com Gonzalez et al (2004) independente do sistema de produção leiteira, a alimentação inadequada ofertada às vacas é uma das principais causas dos problemas relacionados à qualidade do leite. Neste sentido, ocorrem em algumas propriedades leiteiras condições sanitárias que possibilitam controle de mastite, com baixa CCS e que atendem aos padrões de composição centesimal, de CCS e da CPP normatizados para o leite cru resfriado, no entanto, apresentam redução no teor de ESD decorrente das condições nutricionais deficientes.

Apesar da importância do teor de ESD, faltam estudos que avaliam o efeito conjunto dos diferentes indicadores de composição do leite e seu consequente impacto sobre o ESD, existindo uma lacuna de informações para a melhoria do ESD, visando orientar nas decisões quando da não conformidade no percentual de ESD. Como a Instrução Normativa 62/2011 do MAPA (BRASIL, 2011) estabelece que no mínimo uma vez ao mês devam ser coletadas amostras de leite nos tanques de refrigeração nas propriedades rurais e analisadas em laboratórios integrantes da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL), quanto à composição, CCS e CPP do leite, este sistema de análises contínuas de grande número de amostras tem formado bancos de dados que podem auxiliar como fonte de informação para auxiliar na elucidação dos fatores envolvidos com a variação na qualidade do leite. Neste sentido, objetivou-se avaliar os efeitos da época do ano, do volume de leite comercializado pelos produtores, da CCS e da CPP sobre o teor de ESD em amostras de leite de tanques de resfriamento de estabelecimentos rurais, bem como analisar a relação destas variáveis entre si e também com os teores de proteína e lactose.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado a partir de um banco de dados composto por análises mensais de amostras de leite de tanques de resfriamento de produtores individuais que fornecem leite a quatro indústrias de laticínios sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), localizadas no Estado de Santa Catarina. Aproximadamente 94% destes estabelecimentos rurais estavam situados no Estado de Santa Catarina e o percentual restante distribuído numa mescla situados em regiões linderas, nos vizinhos Estados do Paraná e Rio Grande do Sul.

Após a edição e padronização dos dados foram contabilizadas 106.470 observações, amostradas no período compreendido de janeiro a dezembro de 2015. O banco de dados era

composto de informações referentes ao laticínio, mês de coleta da amostra do leite, composição centesimal do leite, contagem padrão em placa (CPP), contagem de células somáticas (CCS) e volume de leite comercializado pelo produtor no respectivo mês.

As análises do leite foram realizadas em laboratórios participantes da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL). As amostras destinadas à CPP foram conservadas com Azidiol® como agente bacteriostático e as amostras destinadas a análises de composição e CCS tiveram como agente conservante o Bronopol®. A CCS foi analisada em contador eletrônico, pelo método de Citometria de Fluxo segundo as normas do Internacional IDF Standart 148-2 (2006). A composição do leite (teores de gordura, proteína, lactose e ESD) foi analisada através da técnica de leitura de absorção infravermelha, por meio de espectrofotometria por radiação infravermelha, segundo as normas do Internacional IDF Standart 141C (2000). As análises de CPP foram realizadas empregando-se metodologia de Citometria de Fluxo, segundo as normas do Internacional IDF Standart 196 (2004).

Os dados foram analisados por técnicas de análises univariadas e multivariadas. Foram consideradas amostras não conformes de acordo com o estabelecido as amostras com teores de ESD menores que 8,4%, de proteína menor que 2,9% (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017) ou de lactose menor que 4,3% (BRASIL, 2017). Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o procedimento MIXED, utilizando-se o software do pacote estatístico SAS® (SAS, 2002), sendo previamente testados para normalidade dos resíduos pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para avaliar a influência das variáveis explanatórias volume de leite comercializado, nível de CCS e nível da CPP sobre os teores de ESD ao longo do ano, seus valores foram estratificados em quintis e análises estatísticas em separado foram conduzidas para avaliar o efeito de cada uma destas variáveis. O modelo estatístico foi constituído pelos efeitos do mês do ano, do laticínio, da interação mês vs. laticínio, da classe (quintil) de volume de leite comercializado, da CCS ou da CPP, e da interação desta com o mês. Paralelamente, foram analisados os efeitos dos meses do ano sobre as variáveis explanatórias; teor de lactose e de proteína, volume de leite comercializado, CCS e CPP. Visando a obtenção da normalidade dos resíduos os valores de CPP e CCS sofreram transformação logarítmica (log10). Os dados foram submetidos a uma limpeza prévia para remoção de *outliers*. Foi tomado como base o resíduo obtido a partir do modelo (valor real - valor estimado) para a variável ESD, sendo removidos dados abaixo e acima de 3,5 desvios padrão da média dos resíduos, seguindo a lógica de Motulsky e Brown (2006). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de significância. Também foi estimada a correlação de Pearson entre as variáveis, através do procedimento CORR do pacote estatístico SAS® (SAS, 2002).

A relação entre as diversas variáveis analisadas foi avaliada através de análise multivariada (análise de agrupamento). A formação de grupos, com similaridade entre si e diferenças entre os grupos, foi realizada utilizando-se o procedimento CLUSTER utilizando-se o software estatístico SAS® (SAS, 2002). Utilizou-se o método hierárquico de Ward, baseado na distância euclidiana, para estimar as médias padronizadas dos grupos. A análise de agrupamento foi confirmada pela análise canônica (PROC CANDISC), para demonstrar a distância entre os grupos, e pela análise discriminante (PROC DISCRIM), pelo método STPEDIISC, para selecionar as variáveis responsáveis pela diferenciação dos grupos. As médias padronizadas dos três grupos formados foram comparadas por análise de variância multivariada, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey com 5% de significância.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média do extrato seco desengordurado (ESD) de 8,55% (Tabela 1) está acima do mínimo de 8,4% estabelecidos no decreto Nº 9.013/2017, que dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal no país (BRASIL, 2017) e na Instrução Normativa 62/2011 do MAPA (BRASIL, 2011). Entretanto, ocorre variabilidade nos dados (desvio-padrão = 0,24) de modo que 25,2% das amostras analisadas estavam abaixo de 8,4%. Em uma análise de banco de dados realizado no Paraná, Montanhini, Moraes e Montanhini Neto (2013) observaram valor médio pouco maior (8,63%), com 24,6% de não conformidade.

Não conformidades também ocorrem para os principais constituintes formadores do ESD (teores de proteína e, especialmente, lactose). Para o teor de lactose 24,6% das amostras estava abaixo de 4,3%, limite estabelecido pelo decreto Nº 9.013/2017 (BRASIL, 2017) e para o teor de proteína 4,7% das amostras estavam abaixo de 2,9% (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017). Se considerarmos não conformidades para ESD, proteína e lactose em conjunto, 36,4% das amostras apresentam não conformidade para ao menos um destes componentes.

O volume médio de leite comercializado (Tabela 1) evidencia o perfil de propriedades leiteiras do Sul do Brasil. A estrutura das propriedades leiteiras no Sul do Brasil é formada sobretudo por pequenos estabelecimentos rurais, como demonstrados em trabalhos em Santa Catarina (WINCK; THALER NETO, 2012; WERNCKE et al., 2016), no Rio Grande do Sul (GABBI et al., 2013) e no Estado do Paraná (LANGE et al., 2016).

Tabela 1 – Valores médios e desvios-padrão das variáveis analisadas.

VARIÁVEIS	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO	MÁXIMO
Volume de leite comercializado (kg/mês)	8.016,92	8.876,26	901,00	276.264,00
Gordura (%)	3,80	0,37	2,00	6,98
Proteína (%)	3,17	0,18	2,01	4,28
Lactose (%)	4,38	0,15	3,15	4,97
Extrato seco desengordurado (%)	8,55	0,24	7,57	9,58
Contagem células somáticas x 1.000 (cel./ml)	637,51	454,50	1,00	9.500,00
Contagem padrão em placas x 1.000 (UFC/ml)	455,96	869,40	2,00	9.955,00
Contagem células somáticas log10 (cel./ml)	5,71	0,28	3,00	6,97
Contagem padrão em placas log10 (UFC/ml)	5,16	0,68	3,30	6,99

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Os teores de ESD, bem como dos seus principais constituintes (lactose e proteína) apresentaram intensa variação ao longo do ano (Figura 1D), com teores mais baixos de ESD no verão e outono, com elevados percentuais de não conformidade em alguns meses destas estações (Figura 1A). Por outro lado, as variações para CCS e CPP ao longo do ano são menos pronunciadas (Figura 1D).

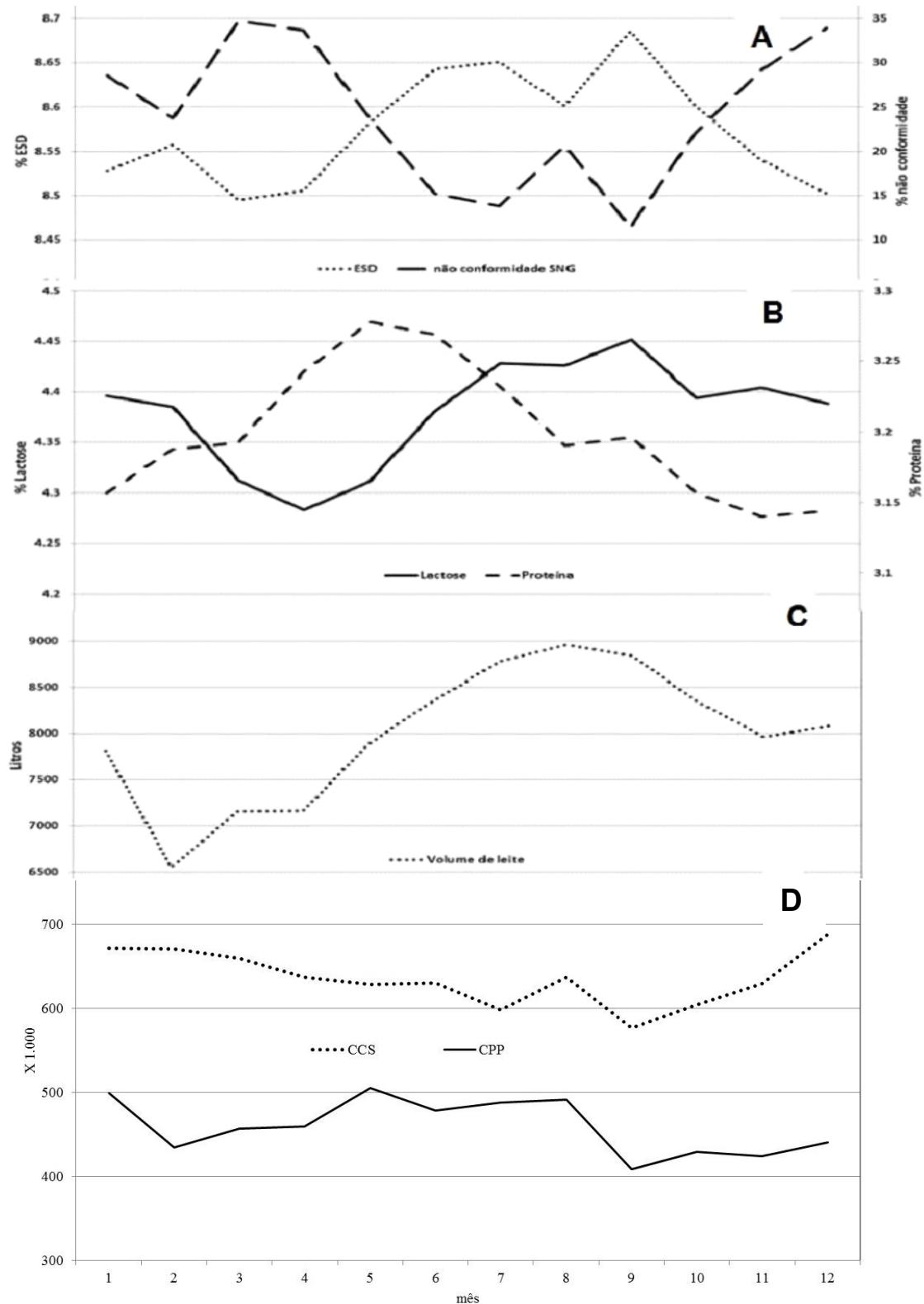
Durante o outono, os baixos teores de ESD estão relacionados à redução no teor de lactose (Figura 1B), a qual já havia sido demonstrada em propriedades leiteiras de Santa Catarina por Alessio et al. (2016). Esta redução nos teores de lactose, e consequentemente do teor de ESD, coincidem com menor volume de leite comercializado por estabelecimento rural nesta época (Figura 1C). Os teores menores de lactose podem ser atribuídos à deficiência nutricional nas vacas lactantes, aspecto que normalmente ocorre nesta época do ano, especialmente devido à deficiência quali-quantitativa de volumosos, sendo que a deficiência de energia na dieta tende a reduzir o teor de lactose (HARRIS JUNIOR; BACHMAN, 2003).

A baixa qualidade e disponibilidade de volumosos podem afetar a ingestão de alimentos, o metabolismo dos nutrientes e, portanto, a disponibilidade de glicose, que é o substrato para a síntese de lactose (RIGOUT et al., 2002; QIAO et al., 2005), diminuindo a produção e o teor de lactose. Por outro lado, na composição do ESD, os baixos teores de lactose no outono são parcialmente compensados pelo aumento nos teores de proteína (Figura 1B), visto que a menor produção de leite/vaca/dia está relacionada com aumento nos teores de proteína e gordura (ALESSIO et al., 2016). Em contraste, os maiores teores de lactose no leite comercializado no inverno e na primavera podem estar relacionados à maior

disponibilidade de pastagens às vacas lactantes, em quantidade e qualidade no Sul do Brasil, sobretudo de aveia (*Avena spp.*) e azevém (*Lolium multiflorum*) (NORO et al., 2006).

Alguns trabalhos desenvolvidos no Estado do Rio Grande do Sul, envolvendo estudos de sistemas de produção de leite, também observaram intensa variação nos teores de ESD ao longo do ano. Martins et al. (2006) observaram valores mais baixos de ESD no outono, em função de baixos teores de lactose, época em que as pastagens apresentavam menor teor de proteína bruta e teores maiores de fibra em detergente neutro, com consequente redução na produção de leite/vaca/dia. Gonzalez et al. (2004) observaram valores mais baixos de ESD no final do verão e início do outono, relacionado principalmente à redução nos teores de proteína do leite, coincidindo com a época de menor qualidade da forragem disponibilizada. Borges et al. (2009) relataram menor volume de leite comercializado por produtores durante o outono.

Figura 1 – Média dos quadrados mínimos para extrato seco desengordurado (ESD), % de não conformidade para ESD (A), lactose e proteína (B), volume de leite comercializado por produtor (C), contagem de células somáticas, contagem padrão em placas (D) no ano.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Durante o verão observa-se redução no teor de ESD, como consequência de redução conjunta nos teores de proteína e lactose (Figura 1B). Este fato pode estar relacionado às condições de estresse térmico submetido às vacas em produção leiteira. Wheelock et al. (2010) observaram redução de 200 a 400g diárias na produção de lactose em vacas leiteiras sob estresse térmico, sendo a glicose consumida em maior velocidade nas vacas sob estresse térmico. Há um aumento da glicólise e da respiração anaeróbia para manter o equilíbrio energético durante situações de estresse térmico (TIAN et al., 2015), sendo que a diminuição da glicemia pode explicar a redução do teor de lactose (SCHWARTZ et al., 2009). O catabolismo muscular também aumenta durante o estresse térmico, ocorrendo maior concentração no nitrogênio ureico plasmático, favorecendo uma maior redistribuição do nitrogênio proteico para ureia (WHEELOCK et al., 2010) e diminuindo a habilidade da síntese proteica das células mamárias, reduzindo-se o teor de caseína (BERNABUCCI et al., 2002). Além disto, também ocorre redução no consumo de alimento pelas vacas leiteiras em estresse térmico (RHOADS et al., 2009), podendo reduzir os teores de lactose e proteína.

As amostras de leite dos estabelecimentos rurais com menor escala de produção apresentam teores mais baixos de ESD ao longo do ano (Tabela 2 e Figura 2). Observa-se que os fatores sazonais afetam as amostras de todos os estabelecimentos rurais avaliados. Entretanto, os baixos teores médios de ESD no leite de pequenos estabelecimentos rurais, em especial aqueles dos primeiros dois quintis (abaixo de 4.314 kg de leite/mês), fazem com que em algumas épocas do ano os valores médios do ESD aproximem-se do mínimo estabelecido, de modo a aumentar a possibilidade de não conformidade (Figura 2). Gabbi et al. (2013) analisando dados de rebanhos leiteiros nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, observaram que a maior diferenciação entre as propriedades leiteiras se dá pelas estratégias de alimentação das vacas leiteiras. Pequenas propriedades normalmente apresentam menor capacidade de manter uma condição adequada de alimentação ao longo de todo o ano, devido entre outras peculiaridades, à menor capacidade de conservação de forragem e nível de tecnificação predominantemente menor.

O volume de leite produzido comercializado, também afetou ( $P < 0,0001$ ) os teores de lactose e proteína. Entretanto, a variabilidade observada nos teores de ESD em função do volume de leite se deve especialmente ao teor de lactose, sendo a diferença no teor de proteína de baixa magnitude, sendo que de modo contrário aos teores de ESD e de lactose, os produtores do último quintil (que comercializam acima de 11.443 kg de leite/mês apresentaram menor teor de proteína (Tabela 2). Este fato pode estar relacionado a sistemas mais intensivos de produção, os quais normalmente apresentam produção média de

leite/vaca/dia maior (WERNCKE et al., 2016), sendo que vacas com maior produção de leite tendem a apresentar menores teores de proteína e gordura do leite (ALESSIO et al., 2016).

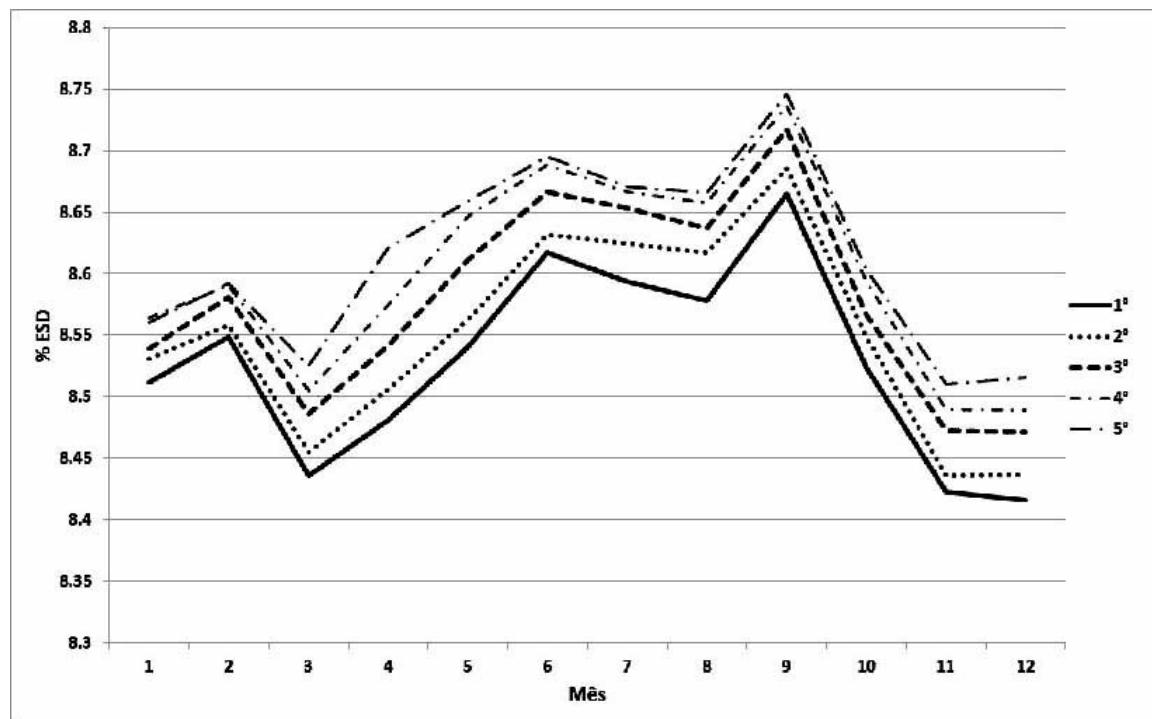
Tabela 2 – Percentuais médios de proteína, lactose e extrato seco desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS) e contagem padrão em placas (CPP), desde os menores (1º quintil) até os maiores produtores (5º quintil), em função do volume mensal comercializado, CCS e CPP.

QUINTIL	PROTEÍNA	LACTOSE	ESD	CCS	CPP
Volume mensal de leite comercializado (X 1.000 Kg)*					
1º (< 2.617)	3.20a	4.33e	8.53e	661.7	713.2
2º (2.618 a 4.338)	3.20a	4.35d	8.55d	643.9	521.4
3º (4.339 a 6.844)	3.20a	4.38c	8.58c	638.1	420.8
4º (6.845 a 11.474)	3.20a	4.40b	8.60b	628.3	363.4
5º (> 11.474)	3.18b	4.43a	8.61a	621.3	281.8
Contagem de células somáticas (CCS X 1.000 cel./ml)*					
1º (< 309)	3.17e	4.45a	8.62a	213.6	333.3
2º (310 a 454)	3.19d	4.41b	8.59b	382.1	367.8
3º (455 a 624)	3.20c	4.38c	8.58c	535.7	384.5
4º (625 a 888)	3.21b	4.35d	8.56d	742.6	440.8
5º (> 888)	3.23a	4.29e	8.52e	1.322.0	775.5
Contagem padrão em placas (CPP X 1.000 UFC/ml) *					
1º (< 35)	3.19e	4.43a	8.62a	453.4	19.3
2º (36 a 91)	3.20d	4.40b	8.59b	545.0	59.9
3º (92 a 224)	3.20c	4.38c	8.58c	608.5	148.2
4º (225 a 612)	3.21b	4.36d	8.56d	704.1	380.6
5º (> 612)	3.21a	4.32e	8.54e	884.3	1696.1

\* Valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ( $P < 0.05$ ).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

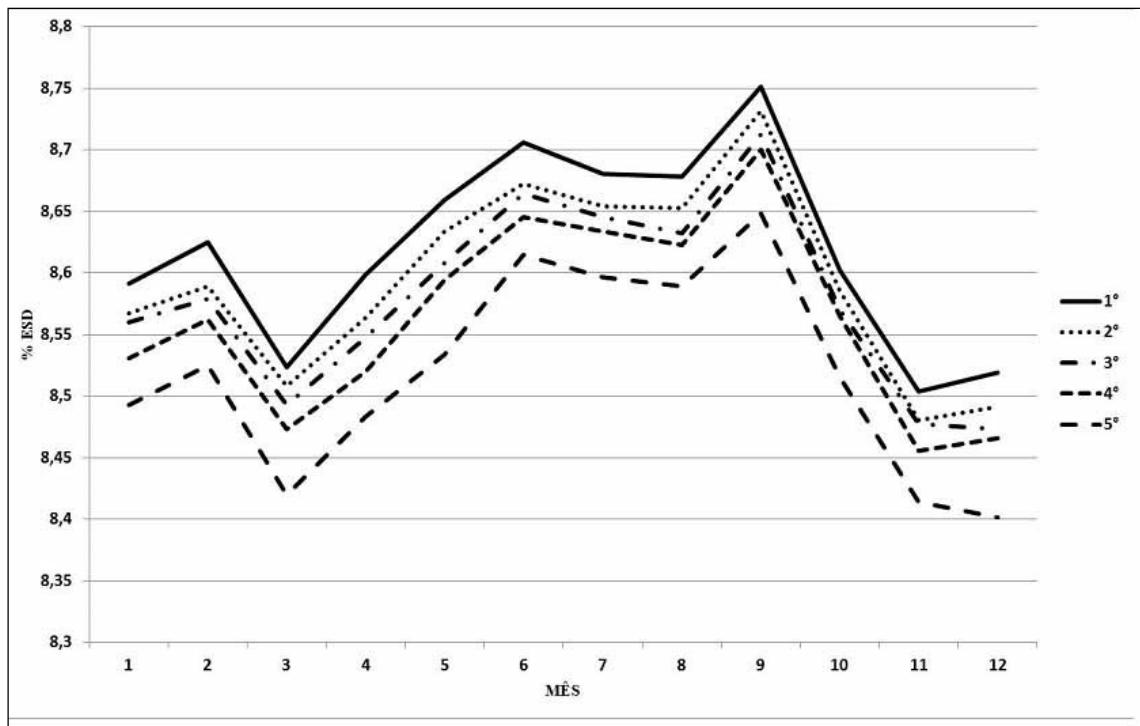
Figura 2 – Média dos quadrados mínimos para o teor de extrato seco desengordurado (ESD) em função do volume do ano mensal de leite comercializado desde os menores (1º quintil) até os maiores produtores (5º quintil), conforme os meses.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A CCS apresentou baixa correlação de Pearson com o volume de leite nos estabelecimentos rurais avaliados ( $r = -0,03$ ), com pouca variação em função do volume mensal de leite comercializado (Tabela 2), de modo que os efeitos de ambas variáveis sobre o teor de ESD podem ser estudados isoladamente. Os níveis de CCS afetaram o teor de ESD de forma homogênea durante o ano (Figura 3), sendo que amostras com elevada CCS apresentaram teores mais baixos de ESD (Tabela 2). Observa-se que para o 5º quintil (acima de 891 mil células somáticas), em alguns meses do ano os teores médios de ESD estiveram abaixo do limite mínimo estabelecido, corroborando com os resultados obtidos por Montanhini, Moraes e Montanhini Neto (2013). Este efeito deve-se à redução do teor de lactose com o aumento da CCS, uma vez que o teor de proteína aumentou levemente com a maior CCS (Tabela 2). A redução dos teores de lactose em função do aumento da CCS foi demonstrada por Alessio et al. (2016). A redução do teor de lactose devido a mastite subclínica, indicada pela elevada CCS, deve-se a fatores como mudanças na homeostase da glândula mamária (PESSOA et al., 2012) e aumento na concentração plasmática de lactose (BENCHEDLY et al., 2009).

Figura 3 – Média dos quadrados mínimos para teor extrato seco desengordurado (ESD) em função do nível de contagem de células somáticas (CCS), desde os menores (1º quintil) até os maiores valores de CCS (5º quintil), conforme os meses do ano.



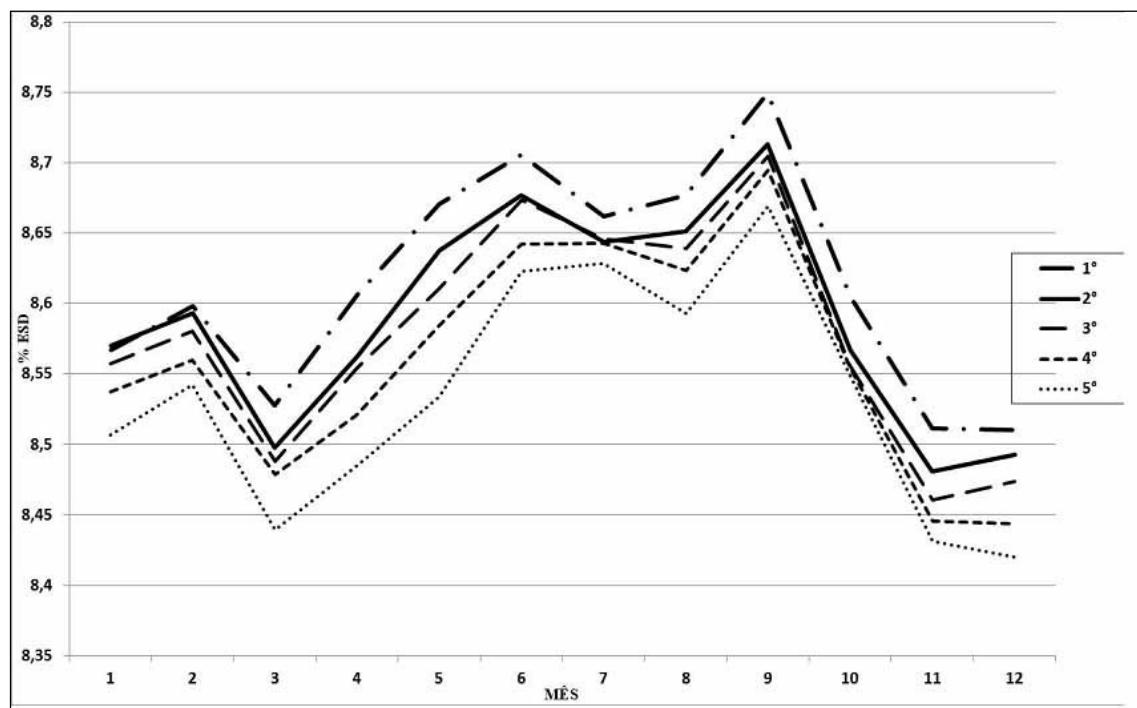
Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A CPP afetou o teor de ESD (Figura 4), de modo similar ao efeito da alta CCS, aferindo-se valores de ESD mais baixos nas amostras com CPP elevada. O efeito negativo da CPP sobre o ESD também se deve à variação no teor de lactose, a exemplo do que ocorre no efeito da CCS sobre o ESD (Tabela 2). Outros trabalhos têm observado redução no teor de lactose com o aumento da CPP (FORSBACK et al., 2011). A lactose, como carboidrato principal do leite, é uma fonte importante para o consumo dos microrganismos (BLUM et al., 2008), sendo que o aumento da contaminação microbiana reduz o teor de lactose. A CPP apresentou correlação levemente negativa com o volume de leite ( $r = -0,12$ ), de modo que os produtores de maior escala de produção apresentaram CPP levemente menor (Tabela 2). Assim sendo, os efeitos da CPP não devem ser atribuídos unicamente a esta variável, pois outros fatores também podem estar interferindo.

Na análise de agrupamento, a análise canônica demonstrou a distância entre os três grupos de amostras de leite. O grupo 1 se diferenciou principalmente em função do volume de leite comercializado pelos produtores, enquanto que o grupo 2 se diferencia, sobretudo devido à CPP e CCS. Já o grupo 3 diferencia-se dos demais pelos teores de ESD, proteína e lactose nas amostras avaliadas. Na sequência foi utilizada a análise STEPDISC para selecionar as

variáveis que compuseram o modelo final e foram determinantes na diferenciação dos grupos, sendo que o volume de leite comercializado explica e o ESD foram as variáveis com maior impacto na diferenciação dos grupos.

Figura 4 – Média dos quadrados mínimos para o teor de extrato seco desengordurado (ESD) em função do nível de contagem padrão em placas (CPP), desde os menores (1º quintil) até os maiores valores de CPP (5º quintil), conforme os meses do ano.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A comparação entre os grupos (Tabela 3) demonstra que houve expressivas diferenças em relação ao volume médio de leite comercializado, bem como dos teores médios de gordura e dos principais componentes (lactose e proteína) que influenciam no percentual de ESD do leite. Também evidencia-se uma parcela dos estabelecimentos rurais nos quais as amostras do leite avaliado apresentam elevadas médias de CCS e CPP. A análise de agrupamento (Tabela 3) mostra que o grupo 1, diferenciado especialmente pelo elevado volume de leite comercializado, apresenta adequados teores de ESD e lactose. Entretanto, estes produtores de maior escala de produção comercializaram leite com teores mais baixos de gordura. Por outro lado, os grupos 2 e 3 representam as propriedades de pequena produção, representando o maior número de observações (n 94.453). Parte destes produtores (grupo 3) apresentam níveis mais baixos de CCS, com elevada concentração dos componentes do leite. Entretanto, outra parte dos produtores (grupo 2) apresenta leite com elevada CCS e CPP, baixa lactose e

proteína e, consequentemente menor teor do ESD, sendo o grupo mais vulnerável a apresentar valores de ESD abaixo do mínimo normatizado. Pesquisas demonstram que a grande maioria dos indicadores de eficiência da atividade leiteira estão associados com a produção média comercializada e com o nível de intensificação alimentar disponibilizada às vacas lactantes (KHANAL; GILLESPIE; MACDONALD, 2010), justificando a diferenciação das amostras representativas do grupo 1.

Tabela 3 – Médias dos agrupamentos conforme volume comercializado, composição, qualidade microbiológica do leite e saúde da glândula mamária.

VARIÁVEIS	GRUPOS			P*
	1	2	3	
Volume de leite comercializado (Kg/mês)	24.461,19 a	5.357,74 c	6.369,57 b	<0,0001
Gordura (%)	3.46 c	3.76 b	3.92 a	<0,0001
Proteína (%)	3.11 b	3.09 c	3.25 a	<0,0001
Lactose (%)	4.47 a	4.27 c	4.45 b	<0,0001
Extrato seco desengordurado (%)	8.57 b	8.35 c	8.71 a	<0,0001
Contagem células somáticas log10 (cel/ml)	5.69 b	5.84 a	5.61 c	<0,0001
Contagem padrão em placas log10 (UFC/ml)	4.74 c	5.49 a	4.98 b	<0,0001
NÚMERO DE OBSERVAÇÕES	12.017	42.900	51.553	

\* Nível de significância.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

O maior percentual de sólidos do leite encontrado no grupo 3, com estabelecimentos rurais com volume relativamente pequeno de leite comercializado (Tabela 3) provavelmente refletem o emprego de alimentação mais adequada ofertada às vacas, bem como níveis mais adequados de saúde da glândula mamária e qualidade microbiológica do leite. A relação entre os elevados valores de CCS e CPP com baixos teores de proteína, lactose e, consequentemente do ESD nas amostras de leite que compõem o grupo 2 (Tabela 3) demonstra a fragilidade destes produtores quanto ao atendimento das normas vigentes. Neste caso, o uso de ferramentas como as boas práticas de higiene podem levar à melhoria em aspectos qualitativos, como a composição centesimal, CCS e CPP do leite produzido e comercializado.

Enquanto a análise de variância demonstrou um leve aumento nos teores de proteína nas classes mais elevadas de CCS (Tabela 2), na análise de agrupamento (Tabela 3) o grupo 2, formado por amostras com elevada CCS, apresentou teores menores de proteína, o que indica que o teor de proteína total do leite pode ser multifatorial. A mastite causa uma maior

permeabilidade nos ácinos glandulares, permitindo que certos componentes passem mais livremente do sangue para o leite, dentre estes as proteínas solúveis, e causa diminuição da secreção de caseína, podendo o teor de proteínas totais do leite estar inalterado ou com mínima redução (MATIOLI et al., 2000).

O expressivo efeito conjunto das elevadas CCS e CPP reduziu consideravelmente os teores de lactose, proteína e, consequentemente ESD (Grupo 2 - Tabela 3). O efeito negativo da alta CCS sobre a lactose se dá por fatores descritos anteriormente e também pelo aumento da permeabilidade vascular, causado pela reação inflamatória da glândula mamária, resultando na saída de lactose da luz da glândula mamária para a corrente sanguínea devido à diminuição da coesão entre as junções firmes das células secretoras (STUMPF et al., 2013).

#### **4 CONCLUSÕES**

Existe elevado percentual de amostras de leite de tanque de resfriamento com teor de extrato seco desengordurado (ESD) do leite abaixo do mínimo estabelecido de 8,4%, principalmente devido aos baixos teores de lactose.

Os menores teores de ESD do leite são observados no outono, possivelmente relacionados à deficiência nutricional, e no verão, período com problemas associados ao estresse térmico, em estabelecimentos rurais com baixo volume de leite.

A elevada alta contagem padrão em placas (CPP) e, principalmente, elevada contagem de células somáticas (CCS) estão relacionadas na redução do ESD no leite

Amostras de leite de tanque de resfriamento de pequenos produtores apresentam teores mais baixos de ESD, especialmente quando apresentam elevada CCS e CPP.

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao Sindicato das Indústrias de Laticínios de Santa Catarina (SINDILEITE) e às indústrias de laticínios pela cedência dos dados para a realização deste estudo.

## REFERÊNCIAS

ALESSIO, D. R. M. et al. Multivariate analysis of the lactose content in milk of Holstein and Jersey cows. **Semina. Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 4, supl. 1, p. 2641-2652, 2016.

ARGENTINA. **Código Alimentario Argentino**. Capítulo VIII: alimentos lácteos. 2014. Disponível em: <[http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\\_alimentos\\_caa.asp](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp)>. Acesso em: 30 jul. 2017.

BEN CHEDLY, H. et al. Cell junction disruption after 36 h milk accumulation was associated with changes in mammary secretory tissue activity and dynamics in lactating dairy goats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, n. 3, p. 105-111, 2009.

BERNABUCCI, U. et al. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. **Anim. Res.** v. 51, p. 25-33. 2002.

BLUM, S. et al. Identification of a bovine mastitis Escherichia coli subset. **Veterinay Microbiology**, v.132, p.135-148, 2008.

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, p. 39-44, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p. 13, 2002.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, p. 8, 2011.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2017.

FORSBACK, L. et al. Effect of storage and separation of milk at udder quarter level on milk composition, proteolysis, and coagulation properties in relation to somatic cell count. **J. Dairy Sci.** v.94, p.5341–5349, 2011.

GABBI, A. M. et al. Typology and physical-chemical characterization of bovine milk produced with different productions strategies. **Agr Syst**, v.121, p. 130-134, 2013.

GONZALEZ, H. et al. Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos Meses do Ano. **Rev. Bras. de Zoot.**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1131-1543, 2004.

HARRIS JUNIOR, B.; BACHAMAN, K. C. **Nutritional and management factors affecting solid-non-fat, acidity and freezing point of milk**. Gainesville: Institute of Food and Agricultural Sciences, Florida Cooperative Extension Service, 2003. Disponível em <<http://ufdcimages.uflib.ufl.edu/ir/00/00/47/70/00001/ds15600.pdf>> Acessado em: 27 dez. 2017.

IDF (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION). **Milk Enumeration of somatic cells**, Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters. Bruxelas, Belgium, 2006. (IDF Standard 148-2).

\_\_\_\_\_. **Milk Quantitative determination of bacteriological quality**: Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results. Bruxelas, Belgium, 2004. (IDF Standard 196).

\_\_\_\_\_. **Whole milk: determination of milkfat, protein and lactose content** - Guidance on the operation of mid-infrared instruments. Bruxelas, Belgium, 2000, 15 p. (IDF Standard 141C).

KHANAL, A. R.; GILLESPIE, J.; MACDONALD, J. Adoption of technology, management practices, and production systems in US milk production. **J. Dairy Sci.** Champaign, v. 93, n. 12, p. 6012–6022, 2010.

LANGE, M. J. et al. Typology of dairy production systems based on the characteristics of management in the Region of West Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, 2016.

MARTINS, P. R. G. et al. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. **Ciência Rural**, v. 36, p. 209-214, 2006.

MATIOLI, G. P. et al. Influencia da mastite na qualidade do leite. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, n314, 27-32, 2000.

MENEGHINI, R. C. M. **Legislação internacional sobre leite cru fluído**: Parte 2/3 [Argentina e UE]. Milkpoint. 2011. Disponível em <<https://www.milkpoint.com.br/seu-espaco/espaco-aberto/legislacao-internacional-sobre-leite-cru-fluido-parte-23-argentina-e-ue-70052n.aspx>>. Acessado em: 30 jul. 2017.

MONTANHINI, M. T. M.; MORAES, H. M.; MONTANHINI NETO, R. Influência da contagem de células somáticas sobre os componentes do leite. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, v. 68, n. 392, p. 18-22, 2013.

MOTULSKY, H. J.; BROWN, R. E. Detecting outliers when fitting data with nonlinear regression—a new method based on robust nonlinear regression and the false discovery rate. **BMC Bioinformatics**, v. 7, n. 1, p. 123, 2006.

NORO, G. et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Rev. Bras. de Zoot.**, Viçosa, v. 35, p. 1129-1135, 2006.

PESSOA, R. B. et al. Avaliação da apoptose de leucócitos polimorfo nucleares CH138+ em leite bovino de alta e baixa contagem de células somáticas: dados preliminares. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, Belo Horizonte, v. 64, n. 3, p. 533-539, 2012.

QIAO, F. et al. Kinetics of glucose transport and sequestration in lactating bovine mammary glands measured in vivo with a paired indicator/nutrient dilution technique. **Journal of Applied Physiology**, San Diego, v. 99, n. 3, p. 799-806, 2005.

RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **J. Dairy Sci.** v.92, p.1986-1997, 2009.

RIGOUT, S. et al. Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. **J. Dairy Sci.** v. 85, p. 595-606, 2002.

ROSA, D. C. et al. Qualidade do leite em amostras individuais e de tanque de vacas leiteiras. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.79, n.4, p.485-493, 2012.

SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM). **Statistical analysis system user's guide: statistics**. Version 8.2, Cary: SAS Institute, 2002.

SHWARTZ, G. et al. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.** v.92, n. 3, p.935-942, 2009.

STUMPF, M. T. et al. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, v.7, n.7 p.1137-1142, 2013.

TIAN, H. et al. Identification of Diagnostic Biomarkers and Metabolic Pathway Shifts of Heat-Stressed Lactating Dairy Cows. **J. Proteomics.** v. 125, p. 17-28, 2015.

WERNCKE, D. et al. Qualidade do leite e perfil das propriedades leiteiras no Sul de Santa Catarina: abordagem multivariada. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 68, p. 506-516, 2016.

WHEELOCK, J. B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.** v.93, n. 2, p.644-655, 2010.

WINCK, C. A.; THALER NETO, A. Perfil de propriedades leiteiras de Santa Catarina e a Instrução Normativa 51. **Rev. Bras. Saúde e Prod. Animal**, v. 13, p. 296-305, 2012.

## **APENDICES**



**APÊNDICE A – Questionário**



**PROJETO DE PESQUISA**

**"Leite com baixa acidez titulável: identificação das causas e relação com a qualidade no leite bovino."**

**Caro produtor:**

Sua participação será de fundamental importância para a realização dessa pesquisa de cunho científico. Será garantido sigilo absoluto dos dados coletados por intermédio deste checklist guia. As informações serão analisadas e divulgadas sem que sejam identificados os dados pessoais e as propriedades leiteiras pesquisadas.

Agradeço sua colaboração!

Luís Carlos Arruda Junior  
Médico Veterinário – CRMV SC 1779  
Doutorando no PPGCA / UDESC / CAV

**CÓDIGO DO PRODUTOR:** \_\_\_\_\_

**APLICADOR:** \_\_\_\_\_

**VISITA TÉCNICA:** ( ) 1<sup>a</sup> ( ) 2<sup>a</sup> ( ) 3<sup>a</sup> **DATA** \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / 201 \_\_\_\_.

**I - CARACTERIZAÇÃO DA PROPRIEDADE E PRODUÇÃO**

1. Área total: \_\_\_\_\_ ha.
2. Área aproximada para produção leiteira, inclusive para produção de alimentação animal: \_\_\_\_\_ ha.
3. Número atual de vacas em lactação: \_\_\_\_\_
4. Número atual de vacas secas: \_\_\_\_\_
5. Produção total diária: \_\_\_\_\_
6. Raça predominante do rebanho leiteiro:
 

( ) Holandês	( ) Jersey
( ) Outra _____	
7. Sistema de criação das vacas em lactação:
 

( ) Soltas no pasto	( ) Free stall
( ) Semi-confinadas	( ) Compost Barn
( ) Outro _____	
8. Reprodução do rebanho leiteiro:
 

( ) Inseminação artificial	( ) Monta natural
( ) Inseminação artificial + monta natural	
( ) Outra _____	
9. A quanto tempo participa do controle leiteiro oficial:
 

( ) Não participo	
-------------------	--
10. Tipo de ordenha:
 

( ) Manual	
( ) Mecânica Balde ao Pé	
( ) Mecânica Balde ao Pé com transferidor	
( ) Mecânica Canalizada	

11. Número de ordenhas / dia:
 

( ) 1	( ) 2	( ) 3
-------	-------	-------
12. Resfriamento do leite:
 

( ) Tanque de imersão	( ) Tanque de expansão
( ) Freezer	( ) Refrigerador
( ) Não resfria	( ) Outro
13. Capacidade do tanque de resfriamento:  
Volume \_\_\_\_\_
14. Coleta do leite:
 

( ) Diariamente	( ) A cada 2 dias
( ) Outro _____	
15. Equipamento para prevenir o estresse calórico nas instalações das vacas:
 

( ) Ventilação forçada + nebulização	( ) Não
( ) Ventilação forçada	
( ) Nebulização	
( ) Outro _____	
16. (Caso utilize) Em quais instalações:  
\_\_\_\_\_
17. A área de espera possui água e sombreamento:
 

( ) Sim	( ) Não
( ) Somente sombreamento	( ) Somente água
( ) Não tem área de espera para as vacas	
18. A área de pastejo possui água e sombreamento:
 

( ) Sim	( ) Não
( ) Somente sombreamento	
( ) Somente água	
( ) Não tem área de pastejo para as vacas	

## II – SANIDADE / HIGIENE / LIMPEZA EQUIPAMENTOS

19. Origem da água utilizada na higienização dos utensílios, ordenhadeira e tanque de resfriamento do leite:

( ) Rede de distribuição ( ) Cisterna  
 ( ) Poço artesiano ( ) Açude  
 ( ) Tanque ( ) Riacho  
 ( ) Outra \_\_\_\_\_

20. A água passa por algum tratamento?

( ) Sim ( ) Não  
 (Se sim) Qual: \_\_\_\_\_

21. Utiliza a contagem de células somáticas (CCS) no monitoramento da saúde do úbere das vacas:

( ) Sim ( ) Não

22. Utiliza a contagem bacteriana total (CBT) no monitoramento da qualidade microbiológica do leite cru:

( ) Sim ( ) Não

23. Faz prevenção de mastite na secagem, utilizando antibiótico via intramamária:

( ) Todas as vacas ( ) Algumas vacas  
 ( ) Não

24. (Se somente em algumas vacas) Qual o critério na seleção para tratamento destas vacas:

( ) Vacas com alta CCS  
 ( ) Vacas com mastite recorrente  
 ( ) Vacas com esfincter do teto aberto (pingando leite)  
 ( ) Vacas de alta produção  
 ( ) Outro \_\_\_\_\_

25. Utiliza algum método alternativo sanitário:

( ) Sim ( ) Não  
 ( ) Homeopatia ( ) Fitoterapia  
 ( ) Outro \_\_\_\_\_

26. (Se sim) Finalidade:

( ) Mastite ( ) Casco  
 ( ) Ectoparasitas ( ) Endoparasitas  
 ( ) Outros \_\_\_\_\_

Há quanto tempo utiliza: \_\_\_\_\_

27. Destino do leite das vacas em tratamento (tanto alternativo quanto convencional):

( ) Descarte  
 ( ) Alimentação de bezerros  
 ( ) Utiliza normalmente  
 ( ) Outro \_\_\_\_\_

28. Considera como colostro o leite até que período:

Até \_\_\_\_\_ ordenhas pós-parto.  
 ( ) Não sabe ( ) Não descarta o colostro

29. Laudos qualidade do leite (atual e últimos 2 meses) expressos na "Nota do Leite" da propriedade:

Data \_\_\_\_\_ Laudo dos componentes avaliados  
 Gord \_\_\_\_\_ Prot \_\_\_\_\_ Lac \_\_\_\_\_

EST \_\_\_\_\_ CCS \_\_\_\_\_ CBT \_\_\_\_\_ NUL \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_ Laudo dos componentes avaliados  
 Gord \_\_\_\_\_ Prot \_\_\_\_\_ Lac \_\_\_\_\_

EST \_\_\_\_\_ CCS \_\_\_\_\_ CBT \_\_\_\_\_ NUL \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_ Laudo dos componentes avaliados  
 Gord \_\_\_\_\_ Prot \_\_\_\_\_ Lac \_\_\_\_\_

EST \_\_\_\_\_ CCS \_\_\_\_\_ CBT \_\_\_\_\_ NUL \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_ Laudo dos componentes avaliados  
 Gord \_\_\_\_\_ Prot \_\_\_\_\_ Lac \_\_\_\_\_

EST \_\_\_\_\_ CCS \_\_\_\_\_ CBT \_\_\_\_\_ NUL \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_ Laudo dos componentes avaliados  
 Gord \_\_\_\_\_ Prot \_\_\_\_\_ Lac \_\_\_\_\_

EST \_\_\_\_\_ CCS \_\_\_\_\_ CBT \_\_\_\_\_ NUL \_\_\_\_\_

III – CARACTERIZAÇÃO DO MANEJO DA ORDENHA

30. Ações de revisão e manutenção da ordenhadeira e do tanque resfriador do leite:

( ) Programadas ( ) Quando apresenta problema

31. Na rotina da ordenha faz lavagem dos tetos:

( ) Sim ( ) Não

32. Elimina os três primeiros jatos de leite, de todos os tetos, de todas as vacas:

( ) Sim, em toda ordenha ( ) Não  
 ( ) Sim, em algumas ordenhas

33. Uso do Teste da Caneca Telada ou de Fundo Preto:

( ) Sim, em toda ordenha ( ) Não  
 ( ) Sim, em algumas ordenhas

34. Uso do Teste da Raquete (CMT):

( ) Diariamente ( ) Semanalmente  
 ( ) Mensalmente ( ) Não

35. Uso do Pré-Dipping:

( ) Toda ordenha ( ) Algumas ordenhas ( ) Não

36. Uso do Pós-Dipping:

( ) Toda ordenha ( ) Algumas ordenhas ( ) Não

#### IV – CARACTERIZAÇÃO DO MANEJO ALIMENTAR DAS VACAS EM LACTAÇÃO



**ANEXOS**



**ANEXO A – Declaração de Ciência e Concordância das Instituições Envolvidas**



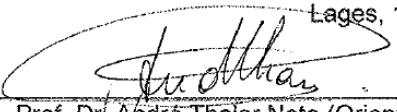


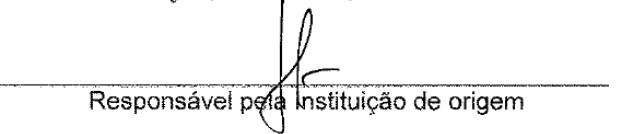
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC  
GABINETE DO REITOR  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS – CEPHS

**DECLARAÇÃO DE CIÊNCIA E CONCORDÂNCIA DAS  
INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS**

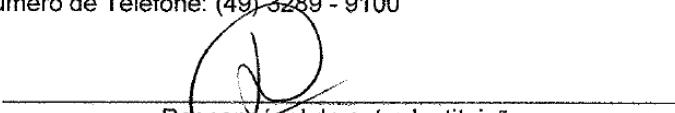
Com o objetivo de atender às exigências para a obtenção de parecer do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, os representantes legais das instituições envolvidas no projeto de pesquisa intitulado "Leite com baixa acidez titulável: identificação das causas e relação com a qualidade no leite bovino." declaram estarem cientes e de acordo com seu desenvolvimento nos termos propostos, lembrando aos pesquisadores que no desenvolvimento do referido projeto de pesquisa, serão cumpridos os termos da resolução 466/2012 e 251/1997 do Conselho Nacional de Saúde.

Lages, 16 de Novembro de 2016.

  
Prof. Dr. André Thaler Neto (Orientador)  
Pesquisador Responsável

  
Responsável pela Instituição de origem

Nome: Prof. João Fert Neto  
Cargo: Diretor Geral  
Instituição: UDESC – Centro de Ciências Agroveterinárias  
Número de Telefone: (49) 3289 - 9100

  
Responsável de outra Instituição

Nome: Valter Antônio Bandalise  
Cargo: Diretor de Política Leiteira e Expansão  
Instituição: Laticínios Tirol Ltda  
CNPJ: 83.011.247/0023-46  
Telefone: (49) 3537-7030



**ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**



**GABINETE DO REITOR**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O(a) senhor(a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa de doutorado intitulada '*Leite com baixa acidez titulável: identificação das causas e relação com a qualidade no leite bovino*', que fará entrevista e coleta de leite fresco integral.

Como objetivos pretende-se avaliar os resultados de qualidade do leite nas propriedades pesquisadas; mensurar indicadores de qualidade da atividade e relacioná-los à acidez titulável do leite; caracterizar a baixa acidez titulável do leite nos rebanhos; identificar os fatores animais e ambientais, além dos efeitos da alimentação e do estresse térmico dos animais incidentes sobre a baixa acidez titulável do leite.

Serão previamente marcados a data e horário para a amostragem de leite e perguntas. Para isto serão utilizados frascos apropriados para coleta/armazenamento de leite, caixas isotérmicas de resfriamento de leite e aplicação de questionário. Estas atividades serão realizadas na propriedade leiteira durante as visitas.

Os dados gerados serão avaliados pela Indústria Lacticínios Tirol Ltda e pelo Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), sendo os resultados dos questionários e das análises das amostras do leite mantidos sob anonimato.

Não é obrigatório responder a todas as perguntas e submeter a produção de leite para avaliação. O(a) Senhor(a) não terá despesas e nem será remunerado pela participação na pesquisa. As despesas decorrentes de sua participação serão resarcidas. Em caso de dano, durante a pesquisa será garantida a indenização.

Os riscos destes procedimentos serão mínimos por envolver somente amostragem de leite (tanque de resfriamento e das vacas individualmente) e utilização de um questionário guia semiestruturado, aplicado ao proprietário e ou gerenciador do rebanho leiteiro. Desta forma serão coletados dados, sendo revelados aos pesquisadores questões envolvendo a temática do detalhamento e caracterização estrutural da propriedade leiteira, detalhamento zootécnico do rebanho, avaliação do emprego das práticas de manejo geral e alimentar das vacas, com potencial impacto na incidência da baixa acidez titulável do leite.

A sua identidade será preservada pois cada indivíduo será identificado por um código. Os benefícios e vantagens indiretas em participar deste estudo serão a possível identificação da abrangência e dos fatores associados na ocorrência da baixa acidez titulável do leite. Serão geradas informações que poderão viabilizar a aplicação de técnicas mais adequadas nos processos de gestão da atividade, com reflexos potenciais na melhoria da qualidade do leite, sobretudo na região oeste, bacia leiteira destaque no Estado de Santa Catarina. A médio/longo prazo os resultados fornecerão subsídios aos produtores e ao departamento técnico da Indústria Lacticínios Tirol Ltda, auxiliando na definição de um programa de controle e prevenção desta instabilidade do leite, com consequente reflexo na melhoria da qualidade do produto e maior lucratividade da atividade.

Como benefícios e vantagens diretos e a curto prazo em participar deste estudo destacam-se os situados no viés do menor descarte da produção leiteira, ou seja, menor penalização do produtor com leite apresentando esta instabilidade e maiores estudos no destino do leite que se encontra abaixo dos limites de acidez titulável.

Os profissionais que estarão acompanhando os procedimentos serão os pesquisadores Luís Carlos Arruda Júnior (doutorando) e o Professor Dr André Thaler Neto (orientador principal da pesquisa).

O(a) senhor(a) poderá se retirar do estudo a qualquer momento, sem qualquer tipo de constrangimento.

Solicitamos a sua autorização para o uso de seus dados para a produção de artigos técnicos e científicos. A sua privacidade será mantida através da não-identificação do seu nome.

Este termo de consentimento livre e esclarecido é feito em duas vias, sendo que uma delas ficará em poder dos pesquisadores e outra com o participante da pesquisa.



**GABINETE DO REITOR**

NOME DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL PARA CONTATO: ANDRÉ THALER NETO

NÚMERO DO TELEFONE: (49) 3289-9212

ENDEREÇO: CAV / UDESC - Avenida Luiz de Camões, Nº2090 – Bairro Conta Dinheiro, CEP 88520-000 – Lages – SC

ASSINATURA DO PESQUISADOR: \_\_\_\_\_

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos – CEPH/UDESC

Av. Madre Benvenuta, 2007 – Itacorubi – Florianópolis – SC -88035-901

Fone/Fax: (48) 3664-8084 / (48) 3664-7881 - E-mail: cepsh.reitoria@udesc.br / cepsh.udesc@gmail.com

CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

SEPN 510, Norte, Bloco A, 3ºandar, Ed. Ex-INAN, Unidade II – Brasília – DF- CEP: 70750-521

Fone: (61) 3315-5878/ 5879 – E-mail: coneep@saude.gov.br

**TERMO DE CONSENTIMENTO**

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa e, que recebi de forma clara e objetiva todas as explicações pertinentes ao projeto e, que todos os dados a meu respeito serão sigilosos. Eu comprehendo que neste estudo, as medições dos experimentos/procedimentos de tratamento serão feitas em mim, e que fui informado que posso me retirar do estudo a qualquer momento.

Nome por extenso \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Local: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ /2017.