

## Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite.

**Marcos Veiga dos Santos**

*Professor Doutor*

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP  
Campus de Pirassununga, SP.

### Introdução

O principal fator que tem impulsionado a melhoria da qualidade do leite no Brasil é a demanda crescente por parte dos laticínios, indústrias e dos consumidores por produtos de qualidade aumentada, refletindo assim, na necessidade de implantação de medidas visando o aumento da qualidade da matéria-prima.

O termo qualidade do leite é atualmente muito utilizado dada a importância que adquiriu no setor de produção leiteira, fazendo-se necessária a sua correta conceituação. O leite de alta qualidade pode ser caracterizado como um alimento livre de agentes patogênicos e outros contaminantes (resíduos de antibióticos e pesticidas), apresentando reduzida contaminação microbiana, sabor agradável, adequada composição e baixa contagem de células somáticas (CCS). Considerando este conceito internacional, podemos focar a qualidade do leite sob diferentes aspectos: características microbiológicas (higiene), controle de mastite e resíduos, e características de composição. Será objetivo do presente artigo discutir os principais aspectos não microbiológicos que afetam a qualidade do leite, com enfoque principal para alterações da estabilidade do leite.

De maneira geral, as propriedades físico-químicas do leite podem ser avaliadas por meio de vários testes que afetam, direta ou indiretamente, o nível de aceitação e capacidade de processamento do produto, entre as quais se destacam, de acordo com Fonseca e Santos (2000):

- a) *Densidade*: determinada pela concentração de sólidos não gordurosos e pelo teor de gordura do leite, variando de 1,024 à 1,036 g/cm<sup>3</sup>, no entanto a faixa mais comum é de 1,028 à 1,032 g/cm<sup>3</sup>.
- b) *Crioscopia*: uma vez que o leite apresenta uma série de substâncias dissolvidas, seu ponto de congelamento é inferior a 0°C, na faixa de - 0,512°C (- 0,530°F) e, desta maneira, a adição de água eleva este valor para próximo de 0°C.
- c) *pH*: pode variar de 6,60 a 6,80. O leite normal possui elevada capacidade tamponante, especialmente na faixa de pH entre 5-6, devido à presença de dióxido de carbono, proteínas, fosfato, citrato e lactato.
- d) *Acidez titulável*: a acidez do leite pode ser medida pela titulação com solução de hidróxido de sódio (Dornic). Assim, o leite normal apresenta uma faixa de variação de

pH entre 6,5 e 6,7 e um valor em °D (graus Dornic) de 14-18. O teste de Dornic tem sido um dos mais utilizados para avaliação de acidez do leite, tendo por objetivo detectar aumentos na concentração de ácido láctico, uma vez que este é formado pela fermentação da lactose por bactérias mesófilas, e conseqüentemente, pode indicar elevada contaminação microbiológica, que torna inadequada matéria prima para o processamento. No entanto, não é somente a presença de ácido láctico que determina a acidez, outros componentes, tais como os citratos, fosfatos e proteínas, também interferem nessa característica.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Resfriado, (Instrução Normativa Nº 51 de 18/09/2002, MAPA), o leite cru resfriado deve apresentar os seguintes requisitos físico-químicos dentro da propriedade rural:

Quadro 1 - Requisitos Físico-Químicos para leite cru resfriado

Requisitos	Limites
Gordura, g /100 g	Teor original, com o mínimo de 3,0 <sup>1</sup>
Densidade relativa a 15/15° C, g/mL <sup>2</sup>	1,028 a 1,034
Acidez titulável, g ácido láctico/100 mL	0,14 a 0,18
Extrato seco desengordurado, g/100 g	mín. 8,4
Índice crioscópico máximo	- 0,530°H (equivalente a -0,512°C)
Proteínas, g /100g	mín. 2,9

<sup>1</sup> proibida a realização de padronização ou desnate na propriedade rural.

<sup>2</sup> dispensada a realização quando o ESD for determinado eletronicamente.

### Alterações da estabilidade do leite

A indústria de laticínios busca a recepção de leite de elevada estabilidade térmica, uma vez que para o processamento de derivados lácteos que sofrem tratamentos térmicos severos ou com vida de prateleira longa. Atualmente, a redução da estabilidade térmica do leite é um problema freqüentemente encontrado em vários estados do Brasil, sendo este um fator limitante principalmente da matéria prima utilizada para a fabricação do leite UHT, o qual representa atualmente cerca de 74% do mercado de leite fluido do Brasil. O tratamento térmico do leite tem como objetivos a garantia de sua segurança ao consumidor e o aumento da conservação, o que é obtido pela redução de microrganismos patogênicos e deteriorantes, assim como da atividade enzimática. No entanto, com o tratamento térmico ocorrem alterações indesejáveis tais como deslocamento do cálcio e fosfato solúveis para a fase coloidal (precipitação de fosfato tricálcico), diminuição da solubilidade da proteína do soro e quebra da lactose em ácidos orgânicos (Wastra e Jenness, 1984).

A estabilidade térmica do leite pode ser definida como o tempo necessário para ocorrer coagulação visível, em determinado pH e temperatura. Esta estabilidade está

diretamente relacionada com a capacidade de o leite resistir à coagulação pelo calor e, portanto às suas características de processamento (Silva, 2003). Diversos fatores afetam a estabilidade do leite: tempo, temperatura, pH, equilíbrio salino, concentração de uréia, estágio de lactação, alimentação e ocorrência de mastite. De forma geral, considera-se aceitável estimar a estabilidade térmica do leite pelo emprego da prova do álcool ou do alizarol, que é um teste muito utilizado para determinar a aptidão do leite para o tratamento térmico. Atualmente, a prova do álcool é muito empregada nas indústrias de laticínios como um teste para aceitação ou rejeição do leite no momento da recepção na plataforma ou mesmo de fazenda leiteira.

O equilíbrio salino do leite influencia a estabilidade térmica do leite, destacando-se entre os seus componentes principais as concentrações de cálcio, fosfato e citrato. Devido ao papel importante do fosfato de cálcio na estabilidade das micelas de caseína, alterações no equilíbrio entre cálcio solúvel e coloidal afetam a prova do álcool e conseqüentemente, a estabilidade térmica do leite.

O leite produzido por vacas no início e final de lactação apresenta concentrações alteradas de proteínas e de cálcio e fósforo, o que afeta a sua estabilidade térmica. De forma geral, os teores de macrominerais na alimentação não afetam as suas concentrações no leite, pois mesmo em dietas deficientes em cálcio, a vaca mobiliza o cálcio e fósforo das reservas ósseas de forma a manter as concentrações no leite. Por outro lado, as alterações de permeabilidade vascular ocasionadas pela mastite alteram o equilíbrio salino do leite e podem afetar a estabilidade térmica.

A ocorrência de enzimas proteolíticas de origem tanto do sangue ou das células somáticas como de origem microbiana resulta em degradação da caseína e conseqüente redução da estabilidade do leite. A proteólise do leite UHT durante o armazenamento é um exemplo de redução da estabilidade do leite pela formação de sedimento e aumento da viscosidade, configurando-se como um importante problema de qualidade.

Em estudo realizado para determinar os fatores relacionados com a sedimentação e gelificação do leite UHT, Silva (2003) avaliou amostras de leite de três diferentes regiões do Brasil (RS, SP e GO) nas duas estações do ano, acompanhando as características de qualidade do leite UHT durante 120 dias de armazenamento. De acordo com os resultados, maiores teores de cálcio e maior relação cálcio/fósforo reduziram a estabilidade do leite cru na prova do álcool, enquanto teores de fósforo e uréia aumentaram esta estabilidade. Verificou-se para alguns dos critérios avaliados (sedimentação) efeitos significativos da região de origem das amostras, demonstrado que tais defeitos de qualidade devem ser abordados localmente pelas indústrias. Adicionalmente, observou-se que os problemas de sedimentação e gelificação – que ocorrem pela perda progressiva de estabilidade protéica

do leite submetido aos tratamentos térmicos - têm maior ocorrência na estação chuvosa. A perda de estabilidade do leite também pode se apresentar pela separação da gordura e gelificação, esta última caracteriza-se pelo aumento da viscosidade do leite. Entre os mecanismos que explicam o aumento da viscosidade do leite destaca-se a ocorrência de proteólise da caseína por enzimas de origem microbiana e as da própria vaca.

### **Teor de cálcio, fósforo, citrato e estabilidade do leite**

O cálcio distribui-se no leite em dois compartimentos: solúvel (iônico e ligado ao citrato e fosfato) e coloidal (ligado a proteínas). De acordo com os resultados de Silva (2003), os teores de cálcio do leite variam em função do estado (local) de origem do leite e foi observada uma redução da concentração de cálcio ao longo do armazenamento. Tal ocorrência pode estar associada ao aumento da sedimentação que tende a deslocar o cálcio para os sedimentos, o que reduz o seu teor na fração fluida do leite.

Tabela – Teor médio de cálcio e fósforo (mg/100 ml) do leite cru em três estados brasileiros.

<b>Estado</b>	<b>Cálcio</b>	<b>Fósforo</b>	<b>Citrato</b>
RS	89,01 b	80,38 b	157,90 b
SP	93,40 ab	89,85 a	160,19 b
GO	95,48 a	89,36 a	180,20 a

Fonte: Silva (2003)

Foi observada no estudo de Silva (2003) uma correlação negativa entre o teor de cálcio do leite cru e a estabilidade ao álcool ( $r = -0,887$ ,  $P < 0,05$ ), confirmando o papel importante deste elemento na estabilidade do leite. Nos leites com maiores teores de cálcio observa-se redução da estabilidade da proteína e conseqüente diminuição da estabilidade ao álcool. Sendo assim, estima-se que no leite com teores aumentados de cálcio ocorre menor estabilidade térmica durante o processamento e armazenamento do leite. Estes dados são confirmados por Barros (2001), que afirma existir uma relação inversamente proporcional entre a estabilidade das proteínas e o teor de cálcio iônico, sendo que a prova do álcool é sensível a alterações do teor de cálcio iônico, pois provoca redução da solubilidade desse mineral. Por outro lado, o teor de fósforo do leite apresentou correlação positiva com a estabilidade ao álcool, o que significa um comportamento inverso ao observado com os teores de cálcio.

Tabela – Variações da composição do leite individual em função da positividade à prova do álcool.

<b>Álcool negativo (n=146)</b>	<b>Álcool positivo (n= 70)</b>
--------------------------------	--------------------------------

<b>Componente</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>P</b>
Gordura %	3,40	0,89	3,95	0,96	0,0001
Proteína %	3,23	0,38	3,49	0,64	0,0002
Lactose %	4,84	0,28	4,65	0,28	-
SNG %	8,68	0,47	8,75	0,71	n.s
ST %	12,16	1,18	13,04	1,76	0,0001
CCS (cel/ml)	210.152	323.636	319.175	707.681	n.s.
Crioscopia oC	-0,52	0,01	-0,53	0,02	0,016
CBT (ufc/ml)	563.079	1.196.334	119.500	141.794	n.s.
Ca++ mg/100ml	98	0,04	117	0,03	0,011
pH	6,59	0,61	6,67	0,14	n.s.

SNG: sólidos não-gordurosos, ST: sólidos totais, CCS: contagem de células somáticas, DP: desvio padrão, n.s: não-significativo.

Fonte: Barros (2001).

De forma semelhante ao cálcio, o citrato do leite encontra-se na forma solúvel e coloidal. A adição de citrato ao leite aumenta a estabilidade térmica devido ao seu efeito de seqüestrar o cálcio iônico e redução do fosfato de cálcio coloidal. Foram observados no estudo de Silva (2003) baixos teores de citrato, reafirmando a importância do equilíbrio salino para a estabilidade do leite. No estudo realizado por Silva (2003), foi encontrada maior estabilidade do álcool das amostras de leite do estado de Goiás, o que pode estar relacionada também com os maiores teores de citrato observados nas amostras de leite daquele estado. O mecanismo de desestruturação das micelas de caseína quando em contato com o álcool pode ser explicado pela ação desnaturante do álcool.

Segundo Horne e Parker (1981), na faixa de pH normal do leite, as micelas de caseína apresentam cargas negativas, as quais são equilibradas pela quantidade de Ca ligado à proteína. Quando há aumento do nível de cálcio solúvel, aumenta-se o cálcio ligado e reduz a carga negativa total das micelas, resultando em menor barreira para a coagulação.

### **Prova de estabilidade do leite ao álcool**

A prova do álcool pode ser usada como um método rápido para estimar a estabilidade das proteínas do leite, uma vez que este teste mede indiretamente a estabilidade do leite ao tratamento térmico ou ao pH (Barros, 2001). Inicialmente, a prova do álcool foi utilizada como estimativa da presença de ácido láctico oriundo da fermentação de microrganismos mesófilos, mas atualmente em condições de refrigeração do leite na própria fazenda, o seu uso está relacionado com a definição da aptidão do leite ao processamento. Nesta prova, o álcool atua como um desidratante e simula as condições do aquecimento. São colocados em um tubo de ensaio 2 mL de leite mais 2 mL de etanol a 68 a 72% (v/v), de acordo com a metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura (M.A. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II-

Métodos físicos e químicos. Brasília, MA, 1981). Caso haja floculação do leite, pode-se suspeitar de leite ácido ou com instabilidade da proteína. Outros testes que poderiam ser usados com os objetivos similares seriam: a prova da fervura, a prova do alizarol e prova da acidez titulável (Dornic).

A ocorrência de leite com instabilidade da proteína, diagnosticada pela prova do álcool, é um problema atualmente encontrado em várias regiões do Brasil. Esta situação tem sido encontrada mesmo em leite que não apresenta elevada acidez e que não seja originário de vacas com mastite. A ocorrência de leite com instabilidade de proteína resulta em matéria-prima com características inadequadas para a produção de derivados lácteos, representando prejuízos para toda a cadeia láctea.

Como as causas da instabilidade protéica do leite na grande maioria das situações a campo são desconhecidas, torna-se difícil a correção através de medidas de manejo. Baseando-se na descrição de ocorrência de fenômenos similares em outros países, como Cuba, pode-se levantar algumas das suas possíveis causas (Ponce, 1999a; Ponce 1999b):

- ? Desbalanço nutricional na relação Ca:P e outros desbalanços minerais
- ? Ação de microrganismos sobre a caseína
- ? Vacas com mastite
- ? Presença de colostro (devido ao alto nível de albumina)
- ? Vacas no final de lactação

Em algumas situações, cooperativas e laticínios freqüentemente encontram leite que não passa na prova do álcool a 72% (resultados positivo), ainda que o leite apresente baixa CBT (contagem bacteriana total), baixa CCS (contagem de células somáticas), pH normal e sólidos totais dentro da faixa de normalidade. A grande preocupação das indústrias, neste caso, é que o leite que não passa nesta prova (quando ocorre coagulação) poderia ter problemas de estabilidade durante o processamento térmico para a produção de derivados lácteos.

Alguns especialistas consideram que o teste do álcool é fundamental para decidir sobre o recebimento do leite na plataforma, em especial para alguns tipos de derivados lácteos como leite UHT, mas deve-se sempre ter em mente que assim como qualquer método, podem ocorrer resultados falso-positivos, e desta forma, métodos auxiliares devem ser usados como confirmação. É importante ainda lembrar que é necessário diluir o álcool na concentração correta (volume/volume) e manter esta concentração até o momento do seu uso, uma vez que uma pequena elevação de 1-2% pode produzir resultados bastante diferentes. Este fato explica porque os resultados usando álcool a 68% são diferentes daqueles do teste do álcool a 72%.

Deve-se destacar que inicialmente, o Ministério da Agricultura (M.A. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II- Métodos físicos e

químicos. Brasília, MA, 1981), recomendava que a prova do álcool fosse realizada utilizando-se 68% de álcool e que atualmente a grande maioria das indústrias utilizam este mesmo teste na concentração de 78%, o que segundo Molina et al. (2001) pode levar ao descarte do leite de forma injustificada. No estudo de Molina et al (2001) realizado no Chile, a estabilidade térmica do leite foi correlacionada com os resultados da prova do álcool a 70, 75, 80 e 85%, sendo que o leite estável a 75% de álcool apresentou estabilidade térmica de 60-70 segundos a 135° C. Não foi observada uma correlação significativa entre a resistência à prova do álcool e a estabilidade térmica do leite, o que não justificaria a utilização desta prova em concentração acima de 75% de álcool.

Ocasionalmente, alguns animais dentro de um rebanho podem apresentar o teste do álcool positivo, enquanto outros parâmetros considerados mais importantes como pH, acidez titulável e crioscopia encontram-se dentro da normalidade. O uso da prova de resistência ao álcool como um teste único para avaliar o desenvolvimento de acidez e desta forma classificar o leite quanto a sua qualidade é bastante insatisfatório. O teste é qualitativo e não quantitativo, o que significa uma grande desvantagem do método.

Como exemplo de fatores que podem afetar o desempenho deste teste, países tropicais com altas temperaturas médias terão alteração nos resultados, uma vez que a temperatura do álcool (10, 15, 20, 25 ou 30° C) pode trazer alterações nos resultados, em função da evaporação do álcool em altas temperaturas. O pH do álcool pode sofrer alterações em função da origem do álcool, assim como a pela própria temperatura ambiente, e conseqüentemente provocar o aparecimento de resultados alterados. Estes fatos indicam que a qualidade do álcool a ser utilizado neste teste deve ser sempre averiguada e adicionalmente, a solução a ser utilizada deve ser freqüentemente trocada, o que minimiza as alterações nos resultados.

Em suma, a prova do álcool pode útil para estimar a estabilidade do leite à floculação e ao tratamento durante o tratamento térmico, buscando a obtenção de produtos mais estáveis e de melhor rendimento, pois se trata de prova muito barata e de simples realização. Adicionalmente, os resultados da prova do álcool podem indicar a necessidade de melhoria na alimentação de rebanhos. No entanto, deve-se ressaltar que os resultados desta prova não devem ser utilizadas com fator único para descontos no preço do leite, uma vez que os resultados desta prova são afetados por diversos fatores, muitos dos quais o produtor não tem controle

### **Síndrome do leite anormal - SILA**

A diminuição no conteúdo de sólidos do leite (PB, caseína, lactose e minerais) e a alteração em algumas de suas propriedades como densidade, acidez e pH, é um fenômeno recorrente observado com certa freqüência ao longo dos últimos anos, com descrição

principalmente em Cuba nas raças leiteiras mais especializadas (Ponce *et al*, 1990). Geralmente o problema está relacionado com transtornos nos processos de tratamento térmico do leite, na qualidade dos derivados lácteos e até mesmo com a penalizações do leite cru por não cumprir os requisitos mínimos exigidos para a densidade (Ponce *et al*, 1992). Em Cuba, uma observação comum é que este fenômeno ocorre mais freqüentemente nos últimos meses do período seco e início da primavera (Fevereiro-Junho) quando existe baixa disponibilidade de pastos e forragens, além de incremento relativo no fornecimento e consumo de cana e milho (Villoch *et al*, 1991).

Segundo Ponce (1999), o número de trabalhos científicos que enfocam alterações parciais de algumas características físico-químicas do leite e que implicam em alterações no processamento industrial são bastante escassos. De acordo com resultados do Centro de Estudos para o Controle da Qualidade do Leite e Derivados Lácteos (CENLAC - Cuba) os critérios para caracterização da SILA levam em conta especificações mínimas de qualidade do leite cru, estabelecidas em nível internacional e regional, associadas aos sistemas de alimentação utilizados e com a ocorrência freqüente de problemas de baixos níveis de sólidos totais, baixa densidade, além de alterações durante o tratamento térmico do leite.

Tabela 2: Características físico-químicas do leite cru e critérios para SILA.

<b>Índice</b>	<b>Valor Médio</b>	<b>Variação</b>	<b>SILA</b>
Acidez (% de ac. Láctico)	0,145	0,10 - 0,18	< 0,13
pH	6,70	6,63 - 6,85	> 6,74
Prova do álcool (70% v/v)	Neg.	Neg-Pos	Pos
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	1,0295	1,026 - 1,032	< 1,029
Proteína bruta (g%)	3,05	2,52 - 3,90	< 2,90
Caseína (g%)	2,44	1,64 - 3,12	< 2,20
Gordura (g%)	3,73	2,70 - 5,90	-
Lactose (g%)	4,75	3,8 - 5,20	< 4,60
Cálcio (mg%)	120	90 - 150	< 111
Fósforo (mg%)	90	63 - 105	< 81
Magnésio (mg%)	12	8 - 14	< 9,01
NNP (%N)	3,5	2 - 12	> 5,0
Relação Caseína/PB (%)	80	70 - 82	< 76

Fonte: Ponce (1999)

De acordo com Ponce (1999), a denominação de Síndrome do Leite Anormal (SILA) é uma proposta, considerando que muitas destas alterações não se associam somente a uma causa bem definida nem constituem uma única alteração do leite. Em termos gerais se denominou SILA, ao conjunto de alterações nas propriedades físico-químicas do leite, que causam transtornos nos processos de elaboração de derivados lácteos, no seu rendimento e/ou na sua qualidade final, os quais estão associados a transtornos fisiológicos metabólicos e/ou nutricionais com implicações nos mecanismos de síntese e secreção láctea.



A base hipotética mais provável da SILA está associada às limitações na quantidade e na qualidade da alimentação, agravado pelo alto potencial produtivo e maiores exigências nutricionais, fundamentalmente de animais das raças especializadas, o que se agrava no final do período seco. O excesso de cana na alimentação unido à baixa disponibilidade de pastos e forragens limita consideravelmente o consumo total de matéria seca e sua digestibilidade, causando transtornos em nível ruminal que se expressam finalmente em problemas metabólicos e alterações variadas na qualidade do leite, sendo que o mesmo também pode ocorrer com outras fontes de alimentação com alto nível de carboidratos de fácil fermentação e baixo conteúdo de proteínas, ou vice-versa, o que foi comprovado por Ponce (1999).

Deve-se, no entanto, antes de apontar para a ocorrência da SILA em uma fazenda leiteira, descartar outras possíveis causas já descritas de alterações da qualidade do leite: mastite, vacas em final de lactação, vacas velhas e teste do leite imediatamente após a ordenha (deve-se aguardar pelo menor 30 minutos após a ordenha). A ocorrência da SILA está intimamente ligada à alimentação com pastagens com baixo teor de matéria seca (MS) e altos níveis de nitrogênio solúvel. Algumas das possíveis causas da SILA estão associadas ao desequilíbrio entre energia/proteína da dieta, baixo consumo de matéria seca, aumento do consumo de carboidratos rapidamente fermentáveis (melaço, cana de açúcar) e diminuição do pH ruminal.

#### *Estudos de alterações da estabilidade do leite no Brasil*

Em estudo realizado por Balbinoti et al (2002), foi avaliada a ocorrência de instabilidade do leite na região Sul do RS. Foram analisadas 3.353 amostras de leite quanto à prova do álcool (76%) e acidez titulável. De acordo com os resultados, a grande maioria (72,72%) das amostras positivas à prova do álcool (com instabilidade da proteína) apresentou acidez titulável normal, caracterizando que a instabilidade do leite observado no estudo não tinha origem da presença de ácido láctico. De acordo com os autores, este problema pode provocar enormes prejuízos ao setor lácteo, pois a perda da estabilidade da caseína frente à prova do álcool, que causa a sua precipitação, ocorre mesmo sem o aumento da acidez do leite. Em muitos casos, o leite com tais alterações é erroneamente interpretado como ácido, penalizando o produtor sem que este possa identificar o que acontece no rebanho. Deve-se ressaltar, no entanto, que o leite com instabilidade térmica poderia não resistir ao processo térmico na indústria e causar igualmente prejuízos durante o processamento.

Donatele et al. (2003) analisaram a relação do teste de alizarol a 72% (v/v) em leite "in natura" de vaca com a acidez e a contagem de células somáticas em rebanhos do estado do Rio de Janeiro. De acordo com os autores, dentre as amostras de leite com

coagulação ao alizarol a 72% a maioria (89,55%) apresentaram pH entre 6,4 e 6,8 e que 89,76% das amostras com instabilidade tiveram a acidez titulável abaixo de 18° D.

### *Considerações finais*

A prova do álcool é ainda muito utilizada como teste de plataforma para decidir sobre a aceitação ou não do leite. No entanto, nas atuais condições de resfriamento do leite na fazenda e coleta a granel, deve-se questionar a sua real utilidade, visto que esta prova pode apresentar deficiências e não ter alta correlação com a estabilidade térmica do leite, em particular quando são utilizadas concentrações de álcool acima de 75%. São necessários estudos para definir quais condições de manejo e alimentação podem aumentar a ocorrência da instabilidade do leite, visando determinar as medidas para a sua correção. Adicionalmente, são necessários estudos para determinar as condições e fatores que afetam os resultados da prova do álcool, visando definir os critérios mais adequados para a sua correta utilização.

### **Bibliografia consultada**

Balbinotti, M., L.T. Marques, V. Fischer, M.E.R. Ribeiro, W. Stumpf Jr., F.J. Reckziegel, C. Carbonari, M. Varela. Incidência do leite instável não ácido (LINA) na região sul do Rio Grande do Sul. PC 2002, Ribeirão Preto.

Barros L (2001). Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Barros L, Denis N, Núñez A, González O, Galain C, De Torres E, González P Variaciones de la leche y prueba del alcohol. *XXI World Buiatrics Congress*, Punta del Este, Uruguay : 577, 2000.

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.110, p.95-100, 2003.

Horne D, Muir D (1990). Alcohol and heat stability of milk protein. *J. Dairy Sci.*, 73: 3613-3626.

Horne, D. S., Parker., T. G. Factors Affecting the Ethanol Stability of Bovine-Milk. 2. the Origin of the pH Transition. *Journal of Dairy Research*. v. 48, n.2, p.285-291, 1981.

Molina, L. H., Gonzalez, R., Brito, C., Carrillo, B., Pinto, M. Correlation between heat stability and alcohol test of milks at a milk collection center. *Archivos de Medicina Veterinaria* v.33, p.233-240, 2001.

Ponce, P.C., Hernández, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre., 2001.

Silva, P. H. F. Leite UHT: fatores determinantes para a sedimentação e gelificação. Lavras: UFLA, 2003, 147 p. (Tese Doutorado em Ciências dos Alimentos).

Villoch A., Martínez E., Rivero R. Ríos I., García L. y Ponce P. Influencia de diferentes condiciones de alimentación sobre la producción y composición de la leche. *Rev. Salud. Anim.* 13: 48-55, 1991.

Walstra P, Jenness R (1984). Química y física lactológica. Ed. Acribia, Zaragoza. 423p.