

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Elza de Moraes

**ESTUDO SOBRE OS FATORES QUE INFLUENCIAM O APARECIMENTO
DO LEITE INSTÁVEL NÃO ACIDO (LINA)
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

CURITIBA
2011

Elza de Moraes

**ESTUDO SOBRE OS FATORES QUE INFLUENCIAM O APARECIMENTO
DO LEITE INSTÁVEL NÃO ACIDO (LINA).
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Monografia apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de especialista, no Curso de Especialização em Gestão em Defesa Agropecuária: Ênfase em Inspeção de Produtos de Origem Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Área de Concentração: Qualidade do Leite.

Orientadora: Médica Veterinária
Prof. Dra. Silvana Krychak Furtado.

CURITIBA
2011

TERMO DE APROVAÇÃO

Elza de Moraes

**ESTUDO SOBRE OS FATORES QUE INFLUENCIAM O APARECIMENTO DO
LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Monografia aprovada como requisito parcial para obtenção do Certificado de Especialização no Curso de Especialização Gestão em Defesa Agropecuária: com ênfase em **Inspeção de Produtos de Origem Animal**, Universidade Federal do Paraná – UFPR, pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a): Prof. Dr. Silvana Krychak Furtado

Membros: Prof. José Francisco Warth

Prof. Renato Silva de Sousa

Prof. Antonio Waldir Cunha da Silva

Curitiba, 31/08/2011.

DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus por minha existência, e aos meus pais por possibilitarem ela. A Rosana pelo apoio, cumplicidade e companheirismo. Especialmente aos mestres, pela paciência em transmitir seus conhecimentos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A professora Silvana Krychak Furtado, pela orientação, ensinamentos transmitidos e confiança em mim depositada.

A SEAB pela concessão da bolsa de especialização.

À Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, pela oportunidade oferecida para a realização deste curso.

À Rosemeire Oberle de Almeida, acadêmica de Medicina Veterinária da Universidade Tuiuti do Paraná, pela dedicação e pelo auxílio.

Aos colegas de pós-graduação pela convivência agradável durante o curso.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho o mais profundo agradecimento.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS	
2.1 Objetivo Geral.....	3
2.2 Objetivo Específico.....	3
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3.1 Importância do Bem Estar Animal e do Manejo	4
3.2 Relação Entre a Alimentação e a Composição e Características Físico Químicas do Leite.....	6
3.3 Considerações Sobre a Composição do Leite.....	10
3.4 Considerações Sobre a Qualidade e Estabilidade do Leite e de Suas Proteínas.....	11
3.5 Avaliação da Estabilidade das Proteínas do Leite e Ocorrência do Leite Instável Não Ácido.....	13
3.6 Influência do LINA sobre o rendimento industrial.....	14
4 DISCUSSÃO.....	17
5 CONSIDERAÇÕES.....	21
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Requisitos físico-químicos do leite cru resfriado de acordo com o regulamento técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado.....	7
Tabela 2. Composição, em porcentagem, do leite de vacas de diferentes raças especializadas de regiões temperadas.....	9

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BPF	Boas Práticas de Fabricação
Ca	Cálcio
CBT	Contagem Bacteriana Total
CMT	Califórnia Mastitis Test
CCS	Contagem de Células somáticas
IN	Instrução Normativa número
LINA	Leite Instável não ácido
L	Litro (s)
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
M	Massa
mg	Miligrama
Mg	Magnésio
min	Minutos
mL	Mililitro
P	Fósforo
RPM	Rotações por minuto
REBEM	Recomendações de Boas Práticas de Bem-estar para Animais de Produção e de Interesse Econômico
Se	Selênio
SILA	Síndrome do Leite A normal
ST	Sólidos Totais
UHT	Ultra High Temperature

UFC	Unidade formadora de colônia
UV	Ultravioleta
α	Alfa
β	Beta
°C	Graus centígrados
°D	Graus Dornic
κ	Kapa
μ	Micro
v	Volume
=	Igual
>	Maior
<	Menor
®	Marca Registrada
%	Porcentagem

RESUMO

A qualidade do leite para beneficiamento industrial possui normas rígidas no mercado internacional. Nos Estados Unidos, a regulamentação exige que o leite seja resfriado a 7°C em até duas horas após a ordenha, e mantido nessa temperatura ou abaixo dela até que chegue às cooperativas e/ou indústria de laticínios. O mercado brasileiro também está se tornando cada vez mais exigente. O leite de qualidade deve apresentar composição química (sólidos totais, gordura, proteína, lactose e minerais), microbiológica (contagem total de bactérias), organoléptica (cor, sabor, aroma e aparência) e número de células somáticas que atendam aos parâmetros exigidos internacionalmente e que estejam de acordo com a Instrução Normativa 51 (IN 51). Segundo RIBEIRO, *et al* (2000) o setor leiteiro brasileiro apresenta problemas de eficiência produtiva e de qualidade da matéria prima, por isso perde em competitividade. De acordo com ZANELA, *et al* (2006) o número de produtores que estão fora dos limites máximos estabelecidos não é muito claro, pois existem poucos dados de caracterização química e da qualidade do leite produzido. A qualidade final do produto destinado ao processamento industrial é influenciada por diferentes fatores dentre eles pode-se citar a nutrição adequada, a saúde geral, a genética, a qualificação de mão e obra, o bem estar animal e as Boas Práticas de Fabricação (BPF) na ordenha, no transporte e na indústria. Estes fatores devem ser observados não somente pelo produtor, mas sim por toda a cadeia produtiva, incluindo-se médicos veterinários, zootecnistas, agrônomos, funcionários das indústrias, motoristas e técnicos do setor agropecuário para que juntos trabalhem buscando a relação dos efeitos ocasionados durante todo o processo e que determinam implicações técnicas que afetem a qualidade do produto a ser processado. Esta revisão de literatura objetiva subsidiar a conduta a ser seguida pela indústria frente a ocorrência de leite instável não ácido (LINA), uma vez que os resultados evidenciam ser freqüente nos rebanhos leiteiros, o que pode acarretar perdas significativas à indústria de laticínios e aos produtores devido ao descarte de leite.

Palavras-chave: indústria de laticínios, descarte de leite, qualidade do leite, teste de álcool, estabilidade, leite instável não ácido .

ABSTRACT

Industrial standard milk quality has rigid rules on international market. In USA, this regulation demands that milk be quenched to 7°C into two hours after milking, and be maintained on this temperature or above until be delivered into milk industry. The Brazilian market is turning more and more exigent. The milk has shown chemical composition (total solids, fat, protein, lactose and minerals), microbiological (total number of bacteria), organoleptical (color, flavor, smelling and appearance) and the total number of somatic cells that answer international parameters demanded and that be in accordance with Federal Instruction Normative 51 (IN 51). According to RIBEIRO, et al (2000) the milk industry in Brazil has shown problems on productive efficiency and on raw material quality, and because this looses competitiveness. Zanela, et al (2006) said the number of producers that are out of maximum established limits is not very clear due few data available about chemical characterization and produced milk quality. The final quality of the product destined to industrial processing is influenced by different factors like right nutrition, general health of the animals, genetics, qualification of workmanship, animal wellness and use of good practices on milking, transportation and manufacturing process. These factors should be observed not just by the producer, but through all production chain, including veterinaries doctors, zootechnists, agronomists, industries workers, transportation operators and all others farming technicians and everybody should work together to identify the its relationship to the effects during all process and that determines on technical implications that have affect on the final product quality. This work is a literature revision that will help on a discussion about a procedure to be adopted by the industry because the occurrence of unstable nonacid milk (LINA) that results, when it is frequent on milk bunch, on significant losses to milk industry and producers due the milk discard.

Keywords: Milk Industry, Milk Discard, Milk Quality, alcohol test; stability, unstable nonacid milk.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade do leite para beneficiamento industrial possui normas rígidas no mercado e internacional. Nos Estados Unidos, a regulamentação exige que o leite seja resfriado a 7°C em até duas horas após a ordenha, e mantido nessa temperatura ou abaixo dela até que chegue às cooperativas e/ou indústria de laticínios. O mercado brasileiro também está se tornando cada vez mais exigente. O Brasil instituiu através da Instrução Normativa n.51 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), de 18 de Setembro de 2002 (IN 51), o Programa Nacional de melhoria e Qualidade do Leite (PNMQL), que estabelece normas de produção, identidade e qualidade do leite, visando adequar as exigências mínimas de qualidade do leite cru e industrializado previstas na legislação internacional (Brasil, 2002). O leite de qualidade deve apresentar composição química (sólidos totais, gordura, proteína, lactose e minerais), microbiológica (contagem total de bactérias), organoléptica (cor, sabor, aroma e aparência) e número de células somáticas que atendam aos parâmetros exigidos internacionalmente. Além destes parâmetros, deve apresentar estabilidade ao álcool 72% v/v. O Leite Instável Não Ácido (LINA) caracteriza-se pela perda da estabilidade da caseína do leite ao teste do álcool, sem apresentar acidez acima de 18°D.

Segundo Pinna & Lizieire (2000) a qualidade do leite está diretamente relacionada à saúde, alimentação e manejo dos animais, com a qualificação da mão-de-obra, higiene dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha, bem como o transporte adequado até a indústria. Todos esses fatores influenciam a sua composição original e, conseqüentemente, as características organolépticas como a cor, o sabor, o aroma e a viscosidade.

A qualidade final do produto destinado ao processamento industrial é determinada por diversos fatores entre os quais destacam-se a nutrição, a saúde do animal, bem como do desenvolvimento genético de raças com aptidão leiteira. Estes itens, associados a adequada qualificação da mão de obra propiciam um desejado bem estar animal, que também interfere na qualidade do leite. A aplicação das normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF), incluindo-se ainda a correta higiene

dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha e o transporte adequado até a indústria, são fatores que dependem não somente da conscientização do produtor, mas sim de toda a cadeia produtiva, incluindo-se médicos veterinários, zootecnistas, agrônomos, funcionários das indústrias, motoristas e técnicos do setor agropecuário. O sucesso da obtenção de um leite de qualidade somente poderá ser atingido com a interação conjunta de todos os elementos humanos envolvidos nas diferentes etapas, assim como nos itens relacionados diretamente ao animal.

A mudança na composição do leite pode alterar significativamente o seu valor como matéria-prima para a fabricação de derivados. O conhecimento da composição do leite é uma ferramenta estratégica para o produtor que pode planejar e aplicar os efeitos da alimentação, do manejo reprodutivo e da genética sobre a lactação (LOPES, 2008), e segundo Carvalho (1977) o fator que mais interfere no percentual de gordura do leite é o teor de fibra da dieta, ou a relação concentrado/volumoso. É de conhecimento comum que quanto maior o teor de fibra na alimentação, maior o teor de gordura do leite.

A proteína do leite é atualmente o componente mais valorizado na maioria dos países. Sua valorização em detrimento da gordura tem se tornado uma tendência, tendo em vista que os consumidores cada vez mais, estão conscientes dos valores nutricionais e calóricos dos alimentos e sua relação com a saúde (SANTOS & FONSECA, 2007).

Nesta perspectiva, apresentam-se os resultados da revisão bibliográfica que visou identificar possíveis causas e efeitos do LINA na cadeia produtiva leiteira.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Determinar os possíveis fatores que propiciam a ocorrência de LINA, baseando-se em revisão bibliográfica, de modo a promover correções no processo produtivo e evitar a ocorrência deste tipo de leite.

2.2 Objetivo Específico

Fornecer subsídios para os produtores de leite e para as indústrias, de modo a orientar adoção de medidas corretivas eficazes para reduzir-se a ocorrência de LINA.

Tecer recomendações a respeito do aproveitamento do LINA.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância do Bem Estar Animal e do Manejo

A importância do bem estar animal tem sido por longo tempo subavaliado, visto que representa uma fração mínima dentro de todo o processo de produção, mas na atual situação de globalização dos mercados, o conceito de qualidade tem sido consolidado ao ponto de vista moral, demandado por uma sociedade que tem exigido um trato mais humanitário com os animais (WSPA, 2010). Para normatizar os procedimentos, o MAPA estabelece através da Instrução Normativa n 56 de 06 de Novembro de 2008, os Procedimentos Gerais de Recomendações de Boas Práticas de Bem Estar para Animais de Produção e de Interesse Econômico – REBEM, abrangendo os sistemas de produção e transporte (BRASIL, 2010). Em 10 de julho de 1934, Getulio Vargas, chefe de Governo provisório da República dos Estados Unidos do Brasil, estabelece medidas de proteção aos animais através do DECRETO 24.645, no qual estão redigidos vários artigos sobre maus tratos aos animais e suas devidas penalidades (BRASIL, 2010). Portanto verifica-se que o tema do bem-estar, tanto dos animais destinados ao abate, quanto dos animais utilizados para o trabalho, produção e lazer em benefício do homem, não é novo no Brasil. Em muitos países a temática do bem estar animal tem sido estudada, discutida e colocada em prática.

O bem estar animal influencia a produtividade do rebanho. Segundo dados da EMBRAPA (2010) os animais se estressam tanto quanto o ser humano e, por exemplo, quando uma vaca está sob situação de estresse pode ter a produção leiteira diminuída em até 30%. O estresse também traz conseqüências diretas para a saúde do animal, induzindo a perda de apetite e redução da imunidade, tornando-o mais vulnerável a doenças. De acordo com a mesma fonte, o bom convívio do tratador com o animal é fundamental, assim como também é de suma importância que as instalações não agridam os animais. Salas de ordenha, estábulos, currais de espera devem privilegiar o conforto. Um piso mal projetado, por exemplo, dificulta o andar do animal, provocando dor. Quantidade grande de animais num espaço pequeno também é motivo de desconforto e se o clima da região for quente, isto

contribui para aumentar o estresse térmico. Animais que não ingerem quantidade suficiente de água tem mais dificuldade de controlar a temperatura corporal, portanto água é uma grande aliada para diminuir o estresse calórico, porém ela deve ser fresca e potável. Os estudos de todos estes fatores podem ajudar a explicar as variações da qualidade do leite. Portanto, a quantidade e qualidade do leite são diretamente influenciadas por um adequado manejo e por condições favoráveis de bem estar animal.

O carregamento do leite nos caminhões provavelmente é outro ponto crítico. Com a finalidade de limitar os efeitos negativos do transporte sobre a qualidade do produto, é necessário realizar a operação nos horários mais frescos do dia, quando as condições ambientais são favoráveis e, em caminhões que possuam capacidade de manter o leite sob refrigeração durante todo o tempo da viagem, pois durante este período o leite poderá ficar exposto a vários fatores como a mistura de lotes, a oscilação de temperatura e o estado da estrada. Conseqüentemente, todos estes elementos podem originar alterações na qualidade do leite (EMBRAPA, 2010).

Outro fator a ser analisado é a duração ou distância a ser percorrida até a indústria de laticínios. Distâncias maiores podem propiciar acidez elevada, devido principalmente a alteração da estabilidade térmica do leite, que segundo LOPES (2008) é o principal fator que permite a proliferação de bactérias mesófilas. Entretanto, leites não ácidos também podem ter sofrido alterações de estabilidade, determinando a ocorrência do produto conhecido como Leite Instável Não Ácido (LINA).

O manejo e o desenho da sala de ordenha, desde a entrada até o ponto de retirada do leite, podem representar outro fator para a qualidade do leite. O contato visual com o homem pode levar a um aumento no nível de adrenalina e temperatura corporal. Como resultado de uma situação de medo e de forte excitabilidade torna-se mais intenso o grau de acidificação muscular. Os animais que são constantemente acometidos pelo estresse desenvolvem patologias que afetam o estado físico e emocional. O transporte, o isolamento, a mudança de ambiente ou de tratador, a introdução do animal em um novo grupo, a deficiência alimentar ou hídrica, a variação térmica, entre outros, são fatores que provocam estresse, e segundo a

repetição, número de fatores e grau de intensidade irão determinar a grandeza do dano a homeostase do animal (PINHEIRO, 2010).

O estresse fisiológico é um dos principais indicadores usados na avaliação do bem estar animal. É desenvolvida uma ação de resposta que consiste na combinação de defesas biológicas. Estas respostas podem ser comportamentais, associadas ao sistema nervoso autônomo, neuroendócrinas e imunológicas. Quando a intensidade do estímulo recebido é pouco acentuada, a resposta inicial é do tipo comportamental, portanto a incidência de comportamentos anômalos pode ser uma variável utilizada para a mensuração do bem estar, sendo necessário o conhecimento aprofundado dos hábitos da espécie de interesse. Quando a resposta comportamental não é apropriada para a situação, principalmente quando as ações comportamentais são limitadas ou impedidas, o animal necessita procurar outro tipo de resposta. O sistema nervoso autônomo é outra linha de defesa. Este atua sobre outros sistemas biológicos, incluindo o sistema cardiovascular e gastrintestinal, as glândulas exócrinas e a adrenal, manifestando reações relativamente rápidas. Clinicamente, a mensuração do nível de estresse é complexa, pois cada animal reage ao estímulo utilizando as defesas biológicas disponíveis de forma individualizada e não há resposta específica aplicada a cada estímulo. Pela complexidade dos processos adaptativos, a avaliação do bem estar envolve uma abordagem multidisciplinar, que considera as características comportamentais, a sanidade, a produtividade, as variáveis fisiológicas e as preferências dos animais pelos diversos componentes do ambiente que os rodeiam (PINHEIRO, 2010).

3.2 Relação entre a Alimentação e a Composição e Características Físico-químicas do Leite

O leite, sem outra especificação, é o produto final, fresco, integral, oriundo da ordenha completa, ininterrupta e em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002).

O fator que mais interfere no percentual de gordura do leite é o teor de fibra da dieta, ou a relação concentrado/volumoso. Assim quanto maior o teor de fibra na

alimentação, maior o teor de gordura do leite, devido à variação na proporção de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen. Maior ingestão de fibra aumenta a produção de ácido acético e reduz a proporção de ácido propiônico. O ácido acético é um dos principais precursores da gordura do leite e seu acréscimo está diretamente relacionado com o aumento desta no leite (CARVALHO, 1977). Existem essencialmente três maneiras de influenciar o teor de gordura do leite, representadas pela seleção genética, pela identificação e manipulação dos genes que controlam a composição do leite e pela nutrição. Apesar do melhoramento genético ser uma importante via para o aumento da gordura no leite, segundo Santos & Fonseca (2007) a nutrição é a forma mais rápida de se atingir tal objetivo. A gordura possui importantes funções e características específicas, sendo a maior fonte de energia do leite, além de possuir inúmeras propriedades que permitem um aproveitamento diversificado nas indústrias lácteas, adicionalmente também é responsável por boa parte das características sensoriais do leite (LOPES, 2008).

Segundo o regulamento técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Resfriado (BRASIL, 2002), o leite cru resfriado deve apresentar requisitos mínimos de qualidade dentro da propriedade rural, estes requisitos são descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Requisitos físico-químicos do leite cru refrigerado, de acordo com o regulamento técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Resfriado (BRASIL, 2002)

Requisitos	Limites
Gordura, g/100g	> 3,0 (leite integral) ¹
Densidade relativa a 15°C g/mL	1,028 a 1,034
Acidez titulável, g ácido láctico/100 mL	0,14 a 0,18 (14-18°D)
Extrato Seco desengordurado, g/100g	> 8,4
Índice crioscópico	- 0,530° H (equivalente a. -0,512°C)
Proteínas, g/100g	> 2,9

FONTE: MAPA, 2002.

NOTA: ¹ É proibido à realização de padronização ou desnate na propriedade rural.

Em estudo conduzido para avaliar a ocorrência de LINA, realizado no nordeste do Estado do Rio Grande do Sul, entre os anos 2007 e 2009, Charopen (2010) utilizou por 56 dias, dietas com três proporções de concentrado (35, 45 e 55%). As

avaliações levaram em consideração o número de dias em lactação, produção leiteira, peso, condição corporal, características físico-químicas do leite, pH ruminal e da urina e composição química do sangue. Os dados obtidos permitiram ao autor relatar elevada incidência de LINA, CCS E CBT, porém pouca interferência da dieta na ocorrência de LINA e na variação da composição do leite.

Viero (2008) avaliando o efeito da suplementação de diferentes fontes e níveis de selênio (Se) em vacas em lactação, sobre as características físico-químicas do leite, produção de leite e concentração de Se no sangue e leite, assim como verificando a ocorrência do LINA e as alterações na composição do leite e sangue verificou que a suplementação de selênio (Se) aumentou linearmente a concentração do mineral no leite e no sangue, independente da fonte. Porém, não ocorreram alterações expressivas nas características físico-químicas, CCS e produção de leite relacionada com a suplementação. O leite classificado como leite instável não ácido (LINA) apresentou maior concentração de cálcio iônico e menor concentração de lactose que o leite normal. O sangue de animais que produziram LINA apresentou maior concentração de uréia e triglicerídeos.

Na região de Costa Branca, no Estado de São Paulo, Lopes (2008) conduziu um estudo objetivando determinar a composição e diversas características físico-químicas dos leites identificados como LINA e de leites estáveis à prova de álcool a 72% (v/v). O autor identificou que do total de amostras instáveis ao teste do álcool a 72% (v/v), 64,77% caracterizavam-se como LINA. Adicionalmente, indicou-se uma possível influência sazonal sobre a ocorrência deste problema nos rebanhos analisados, uma vez que a frequência de amostras de LINA variou de acordo com o mês de amostragem. No mês de julho, a incidência de LINA foi maior, coincidindo com o período seco, quando a disponibilidade e a qualidade das forragens são reduzidas. No mês de setembro, época de chuvas, em que ocorre maior oferta de forragens de melhor qualidade, a incidência de LINA diminuiu. Em julho, houve um aumento significativo nos níveis de gordura, lactose e CCS, observando-se, porém, uma diminuição significativa nas concentrações de proteína bruta nas amostras. Neste mês, notou-se também uma menor concentração de κ -caseína no LINA, embora as diferenças entre as caseínas α -S₁, α -S₂, α e κ do LINA e do leite estável não tenham sido significativas nos meses de amostragem. Os resultados

evidenciaram que a ocorrência de LINA é freqüente nos rebanhos leiteiros desta região avaliada, o que pode acarretar perdas significativas à indústria de laticínios e aos produtores.

Em estudo comparativo sobre a suplementação de vacas holandesas em estágio avançado de lactação, Marques, *et al.* (2010) verificaram que vacas que receberam nível alto de suplementação apresentaram maior reação para a concentração de etanol da mistura capaz de induzir a precipitação que aquelas que receberam baixo nível de suplementação, embora os valores tenham decrescido com o prolongamento da lactação, atribuindo isso em função, possivelmente, à alteração do conteúdo dos minerais.

Segundo Santos & Fonseca (2007) o leite é uma composição aquosa de várias substâncias onde estão todos os nutrientes requeridos para a manutenção e o crescimento dos bezerros, como a energia, os aminoácidos, os minerais e as vitaminas. Sendo então caracterizado como uma suspensão coloidal de micelas de caseína ligadas ao cálcio (Ca) e fósforo (P), emulsão de glóbulos de gordura e vitaminas lipossolúveis e solução de lactose, proteínas solúveis em água, sais minerais e vitaminas hidrossolúveis. Esta composição fornece nutrientes e proteção imunológica suficientes para caracterizá-lo como alimento completo. A composição média do leite de vacas das diferentes raças leiteiras é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição, em porcentagem, do leite de vacas de diferentes raças leiteiras mantidas em regiões temperadas.

Componentes	Colostro²	Holandesa	Jersey	Pardo-Suíço	Ayrshire	Guernsey
Proteína (%)	14,30	3,29	3,98	3,64	3,48	3,75
Gordura (%)	3,60	3,54	5,13	3,99	3,95	4,72
Cinzas (%)	5,20	0,72	0,77	0,74	0,72	0,76
Lactose (%)	3,10	4,68	4,83	4,94	4,60	4,71
EST ¹ (%)	22,10	12,16	14,43	13,08	12,77	14,43

FONTE: LOPES, 2008

NOTAS: ¹ Extrato seco Total

² Adaptado de Roy, 1980

3.3 Considerações Sobre a Composição do Leite e Ocorrência de LINA

De acordo com parâmetros determinados pelo MAPA na IN 51/02, os teores mínimos estabelecidos de gordura, proteína e sólidos desengordurados para o leite são respectivamente 3,0; 2,9 e 8,4%. Na região sul, a CCS máxima estabelecida, de julho de 2005 a julho de 2008 foi um milhão de células mL⁻¹, de julho de 2008 a julho de 2011 é de 750 mil células mL⁻¹ e depois desse período será de 400 mil células mL⁻¹.

Segundo Zanela (2006) até o período do ano de 2006 o número de produtores que ficaram fora destes limites não eram conclusivos, pois existiam poucos dados de caracterização da composição química e da qualidade do leite produzido.

O leite caracteriza-se por poder ser facilmente convertido em uma extensa variedade de diferentes e atrativos produtos. FOX & MCSWEENEY (2003) consideram esta propriedade, o fator mais importante do ponto de vista industrial, tendo em vista que a fabricação de muitos dos produtos lácteos depende de algumas propriedades únicas das proteínas do leite.

De acordo com Zanela (2004) o LINA pode ser observado em rebanhos leiteiros e caracteriza-se por apresentar alterações nas suas propriedades físico-químicas, sendo a principal alteração identificada, a perda da estabilidade da caseína ao teste do etanol, resultando em precipitação positiva, sem haver acidez elevada do leite.

Dentre os parâmetros de qualidade para a indústria, a proteína é uma das mais importantes, em decorrência da sua relação com o rendimento na produção. Da mesma forma que a indústria visa à proteína do leite, a IN 51/02 do MAPA, estabelece o teor de proteína mínimo de 2,9% para que o leite seja passível de comercialização entre produtor e indústria (BRASIL, 2010). Com isso, segundo Lopes (2008) intensificam-se as pesquisas na área de quantidade de proteína no leite.

Segundo Santos & Fonseca (2007) diversos fatores podem afetar a produção de proteína láctea, entre os quais destacam-se as características genéticas, alimentos utilizados e formulação da dieta nutricional, estágio da lactação, manejo alimentar e condições ambientais, sendo que a grande maioria destes apresentam possibilidades limitadas de manipulação, quando comparados com a gordura do leite.

Para as condições ambientais e nutricionais encontradas no Estado do Paraná, as porcentagens de proteína no leite de vacas das raças Holandesa, Jersey e Pardo-Suiça são respectivamente 3,11; 3,68 e 3,37 (RIBAS, 1998).

Roma Junior, *et al.* (2007) afirmam que embora a quantidade de proteína seja importante para o rendimento industrial, existe também a preocupação com a qualidade da proteína em termos de estabilidade térmica, uma vez que as indústrias de laticínios necessitam de matérias primas resistentes ao processamento térmico.

A etiologia do LINA, segundo Zanela (2006), não se encontra associada apenas a fatores nutricionais, mas pode também estar associada a fatores genéticos. Em seu experimento os resultados demonstraram que os animais da raça Jersey também produzem LINA, apesar de acreditar-se que o leite destes animais seria mais estável e, segundo Horne & Parker (1981), existem ainda diferenças individuais entre os animais.

3.4 Considerações Sobre a Qualidade e Estabilidade do Leite e de Suas Proteínas

A qualidade do leite pode ser definida em termos de sua integridade, ou seja, sem sofrer adição de substâncias e/ou remoção de componentes, de sua composição química, características físicas e livres de deterioração microbiológica e presença de patógenos (DURR, 2004). A estabilidade térmica do leite pode ser definida como o tempo para ocorrer coagulação visível, em determinado pH e temperatura. Esta estabilidade está diretamente relacionada com a capacidade do leite em resistir à coagulação pelo calor e, portanto às suas características de processamento (SILVA, 2003).

Segundo Martins, *et al.* (2006) os teores da composição química do leite variam em função dos meses do ano, relacionados, parcialmente, às variações da qualidade dos alimentos. E, de modo geral, o melhor nível nutricional, verificado na primavera, permite os maiores valores das frações nitrogenadas do leite.

Dentre os diversos fatores que reduzem o teor de proteína no leite destacam-se o baixo consumo de matéria seca, a falta de proteína degradável e a falta de carboidratos não estruturais (PERES, 2001).

A caseína é uma fosfoproteína sintetizada nas células epiteliais da glândula mamária e secretada na forma de micelas. Esta proteína é classificada em quatro subgrupos: α , β , κ , γ . Dentro de cada subgrupo aparecem ainda variantes genéticas, que são mutações que ocorreram na estrutura primária das caseínas em que um ou mais aminoácidos foram substituídos por outros na seqüência primária da cadeia polipeptídica (SGARBIERI, 1996).

A estabilidade da micela de caseína depende da presença de κ -caseína na sua superfície, a qual constitui-se na fração hidrofílica da caseína, que reage com a água e impede a agregação das micelas (CREAMER, *et al.*, 1998). Segundo Tuiner & Kruif (2002), a estabilidade estérica gerada pela camada externa de κ -caseína, em forma de escova, é o fator estabilizante mais importante. Normalmente, a caseína é bastante estável em altas temperaturas e não é afetada pela pasteurização. Entretanto quando há acidificação do leite, ocorre a desestruturação das micelas e formação do coágulo (SANTOS & FONSECA, 2007).

Segundo Holt (2004), o excesso de cálcio diminui a solubilidade das proteínas em água. O excesso de sais minerais domina as cargas do solvente, representado pela água, diminuindo conseqüentemente o número de cargas disponíveis para se ligarem ao soluto, que é a proteína. Desta forma, aumenta a interação soluto/soluto, ocorrendo a precipitação das proteínas. Conforme relatado por Fairbain & Law (1986), a multiplicação de microorganismos psicotróficos em baixas temperaturas, produzem enzimas proteolíticas termoestáveis, sendo que a maioria das quais tem ação sobre a κ -caseína, o que acaba resultando na desestabilização das micelas e coagulação do leite.

Em altas temperaturas a quantidade de fosfato de cálcio associado às micelas aumenta e ocorre dissociação de κ -caseína, diminuindo a estabilidade. A 4-5°C a hidratação aumenta, já que as cadeias de β -caseína iniciam a dissociação das micelas. As cadeias de β -caseína projetam-se da superfície micelar e uma pequena parte do fosfato de cálcio se dissolve. Já a 0°C a agregação fica difícil de acontecer

(WALSTRA, 1999). Conforme citam Santos & Fonseca (2007), o citrato do leite de forma semelhante ao cálcio, encontra-se na forma solúvel e coloidal. De acordo com Varnam & Sutherland (1995), a concentração de citrato afeta o conteúdo de cálcio solúvel e a estabilidade do leite, pois o citrato sequestra o cálcio iônico, reduzindo o cálcio disponível para unir-se com a caseína e estabilizando as micelas, evitando sua agregação.

Em condições de pH 5,2 ou 5,3 as ligações que mantêm as micelas de caseína juntas ficam mais fracas e escassas. Valores inferiores de pH mantêm as micelas mais fortemente unidas, devido ao aumento da atração eletrostática entre as moléculas. E, com pH superior a 5,3 uma quantidade crescente de fosfato de cálcio coloidal faz o mesmo (WALSTRA, 1999).

3.5 Avaliação da Estabilidade das Proteínas do Leite e Ocorrência do Leite Instável Não Ácido

A estabilidade do leite está diretamente relacionada com a capacidade do mesmo em resistir à coagulação pelo calor e pode ser definida como o tempo necessário para ocorrer coagulação visível, em determinado pH e temperatura. De forma geral, considera-se aceitável estimar a estabilidade térmica do leite pelo emprego da prova do álcool ou do alizarol, utilizado para determinar a aptidão do leite para o tratamento térmico (SILVA, 2003).

Segundo Ponce (2000), a prova do álcool pode ser usada como método rápido para estimar a estabilidade das proteínas do leite. É o principal teste utilizado nas plataformas de recepção dos laticínios a fim de detectar a estabilidade térmica do leite cru. A atuação do álcool como um desidratante simula as condições do aquecimento, e, caso haja floculação do leite, pode-se suspeitar de leite ácido ou com instabilidade de proteína, sendo considerado não apto para a industrialização (MOLINA, *et al.*, 2001).

O álcool ao promover a desidratação, reduz a constante dielétrica do meio, levando ao aumento da dissolução de sais e redução da carga negativa das micelas, fazendo com que aumente a precipitação das caseínas (FISCHER, 2010). Portanto,

quanto mais etanol na solução, mais rápido, pronunciado e irreversível são os efeitos. Ao utilizar-se uma maior concentração de etanol na prova do álcool, produz-se uma maior desestabilização das proteínas, devido à redução da constante dielétrica do meio que elimina a barreira de energia que previne a coagulação, modificando a carga das proteínas, conseqüentemente as micelas precipitam (HORNE & PARKER, 1980).

O LINA embora apresente perda da estabilidade da caseína do leite, porém mantendo níveis de acidez considerados normais pelos padrões do MAPA, é rejeitado ou subvalorizado pela indústria, muitas vezes nem sendo coletado na propriedade rural, causando prejuízos econômicos e financeiros a toda a cadeia produtiva (RIBEIRO, *et al.*, 2010). Segundo Ponce (2000), o aparecimento de leite que reage positivamente à prova do álcool ou à prova do cozimento, sem estar ácido nem ser originário de vacas com mastite, é um problema prático que acomete com frequência rebanhos leiteiros e/ou indústrias.

3.6 Influência do LINA Sobre o Rendimento Industrial

O leite é a base de numerosos laticínios, sua industrialização gera produtos como a manteiga, o iogurte, o queijo, o leite em pó, o leite condensado, entre outros. Além disso, as proteínas do leite são de fácil digestão e de elevado teor biológico, contendo os aminoácidos essenciais em quantidade e proporção adequadas daí sua importância na alimentação, principalmente na fase de crescimento humano (ROMA JUNIOR *et al.*, 2011).

Dentro dos parâmetros de qualidade, a proteína do leite é uma das mais importantes, principalmente para a indústria, em decorrência da sua relação com o rendimento industrial. Adicionalmente, a legislação nacional com a Instrução Normativa 51 (IN 51), de 18 de Setembro de 2002 do Ministério da Agricultura, estabelece um teor de proteína bruta mínimo de 2,9% para o leite ser passível de comercialização entre produtor e indústria.

Existe também a preocupação com a qualidade da proteína em termos de estabilidade térmica. Este problema resulta em matéria prima com características

inadequadas para a produção de derivados lácteos, representando prejuízo para toda a cadeia produtiva.

A caseína além de ser consumida diretamente no leite *in natura* é também encontrada nos derivados lácteos, principalmente no queijo. Esta proteína pode ainda ser usada na produção industrial como aditivo de alimentos e na indústria farmacêutica.

Segundo Marques (2004), Barros (2001) E Zanela (2009) a porcentagem de gordura não varia entre leite normal e LINA, entretanto este último autor considera que os teores de proteína bruta, lactose, sólidos totais desengordurados são mais baixos no LINA. Resultado semelhante foi encontrado por Ponce Ceballos & Hernandez (2001) em relação à proteína bruta. E segundo Sobhani, *et al* (1998); Negri, *et al* (2001) relatam que outros autores não identificaram diferenças significativas entre o leite normal e o instável.

No caso de lactose, parece haver um consenso entre os autores acima citados de que o leite instável apresenta teores mais baixos, porém é sugerido que há uma associação com alimentação deficiente do animal.

Segundo Vieira *et al.*,(2011), extrato seco total é representado pela gordura, açúcar, proteínas e sais minerais, quanto maior esse componente no leite, maior será o rendimento dos produtos. O extrato seco desengordurado é destinado pelas indústrias para a fabricação de leite em pó, leite condensado, doces, iogurtes e queijos magros. A gordura dá origem à manteiga, sendo seu teor responsável pelo diferencial de preço pago ao produtor.

Em trabalho sobre os efeitos do leite instável não ácido sobre a produção de iogurte batido, desenvolvido por Ribeiro, *et al*, (2007) não foram observadas alterações no tempo de fermentação, pH e viscosidade deste produto. Contudo, este autor fez referências às implicações deste leite sobre os equipamentos de processamento térmico, onde ocorrem deposições anormais, necessitando mais interrupções durante o processo para a realização de limpezas nos trocadores térmicos, evitando recontaminação do leite pós pasteurização.

O principal fator que tem impulsionado a qualidade do leite, segundo Lopes (2008), é a demanda crescente por parte dos laticínios, indústrias e consumidores por produtos de qualidade superior, refletindo na necessidade de medidas que

elevem a estabilidade térmica, uma vez que a pasteurização é essencial para o processamento de derivados lácteos, garantindo segurança ao consumidor e aumentando a conservação dos produtos pela redução de microorganismos patogênicos e deteriorantes. Como consequência reduz-se também a presença de enzimas termoestáveis que são produzidas pelos referidos microrganismos.

4 DISCUSSÃO

Marques, *et al.* (2010) verificaram que vacas que receberam nível alto de suplementação alimentar apresentaram maior reação para a concentração de etanol da mistura capaz de induzir a precipitação do que aquelas que receberam baixo nível de suplementação. Contrariamente a isto, Zanela, *et.al.* (2006) constataram maior frequência de resultados positivos no teste do álcool com a redução do aporte nutricional. Este fato pode ser explicado pela modificação dos minerais presentes no leite, que segundo Tronco (1997) alteram a resposta ao teste do álcool.

Segundo Lopes (2008), distâncias longas durante o transporte, podem propiciar acidez elevada, especialmente aquela decorrente da proliferação de bactérias mesófilas, principalmente pela diminuição da estabilidade térmica do leite. Adicionalmente ao transporte, Pinheiro (2010), relaciona o isolamento, a mudança de ambiente ou de tratador, a introdução do animal em um novo grupo, a deficiência alimentar ou hídrica, a temperatura ambiente, entre outros, como fatores que provocam estresse, e segundo a repetição, número de fatores e grau de intensidade irão determinar a intensidade da alteração na homeostase do animal, proporcionando a ocorrência de LINA. Reforçando esta teoria, estudos relacionados ao bem estar animal realizados pela EMBRAPA (2010) indicam que fatores que causam variações na homeostasia podem determinar alterações nas condições fisiológicas e comportamentais do animal, favorecendo o aparecimento de LINA.

Charopen (2010) observou elevada incidência de LINA, CCS E CBT, porém pouca interferência da dieta na ocorrência de LINA e na variação da composição do leite. Em desacordo, Viero (2008) verificou que a suplementação de Selênio aumentou linearmente a concentração do mineral no leite e no sangue, independente da fonte.

Lopes (2008) identificou como LINA 64,77 % do total de amostras instáveis ao teste do álcool a 72% (v/v) e verificou que a frequência de amostras de LINA variou de acordo com o mês de amostragem, indicando uma possível influência sazonal sobre a ocorrência deste problema nos rebanhos analisados. Igualmente de acordo estão Martins, *et al.* (2006) onde apontam que os teores da composição química do leite variam em função dos meses do ano, relacionados, parcialmente, às variações

da qualidade dos alimentos. Segundo Zanela (2004), o LINA caracteriza-se por apresentar alterações nas suas características físico-químicas, sendo a principal alteração identificada, a perda da estabilidade da caseína ao teste do álcool, resultando em precipitação positiva, sem haver acidez elevada do leite. Segundo Santos & Fonseca (2007), diversos fatores podem afetar a produção de proteína láctea, entre os quais se destacam as características genéticas, alimentos utilizados e formulação da dieta nutricional, estágio da lactação, manejo alimentar e condições ambientais. No atinente ao nível de proteína Peres (2001) relata que entre os fatores que reduzem o teor de proteína no leite estão o baixo consumo de matéria seca, a falta de proteína degradável e a falta de carboidratos não estruturais. Corroborando o fator genético, Zanela (2004) sugere que a etiologia do LINA não se encontra associada apenas a fatores nutricionais, mas podem também estar associada características genéticas. Adicionalmente Horne & Parker (1981) afirmam que existem ainda diferenças individuais entre os animais.

Em relação à proteína bruta os autores Zanela (2009) e Ponce Ceballo & Hernandez (2000) consideram que ela encontra-se reduzida no LINA, porém Sobhani, *et al* (1998) e Negri, *et al* (2001) relatam que outros autores não identificaram diferenças significativas entre o leite normal e o instável.

A estabilidade da micela de caseína depende da presença de κ -caseína na sua superfície, a qual se constitui na fração hidrofílica da caseína, que reage com a água e impede a agregação das micelas (CREAMER, *et al.*, 1998). Segundo Tuiner & Kruif (2002), a estabilidade estérica gerada pela camada externa de κ -caseína, em forma de escova, é o fator estabilizante mais importante. Conforme explicado por Fairbain & Law (1986), a multiplicação de microorganismos psicrotóxicos em baixas temperaturas, produzem enzimas proteolíticas termoestáveis. A maioria destas enzimas tem ação sobre a κ -caseína, o que acaba resultando na desestabilização das micelas e coagulação do leite. Em altas temperaturas, a quantidade de fosfato de cálcio associado às micelas aumenta e ocorre dissociação da κ -caseína, diminuindo a estabilidade. Em temperatura entre 4 e 5°C, a interação fica fraca e parte das caseínas iniciam a dissociação das micelas. Consequentemente a hidratação aumenta. Já a 0°C a agregação fica difícil de acontecer (WALSTRA, 1999).

A pasteurização é uma etapa fundamental nas indústrias de laticínios, contudo o LINA ao sofrer este processo forma deposições anormais nos trocadores térmicos, o que acarreta recontaminação do leite pós pasteurização e maiores custos em limpeza e higienização dos equipamentos.

Quanto à gordura, os pesquisadores Marques (2004), Barros (2001) e Zanela (2009) concordam que não há diferença entre LINA e leite normal, assemelhando-se com Sobhani *et al*, 1998 e Negri, *et al*, 2001 e Ponce Ceballo & Hernandez (2000) que não verificaram variação significativa para gordura. Cabe ressaltar que o teor de gordura é o que mais pode variar em função da alimentação, isto é, diminui com o aumento do volume de produção.

Segundo Holt (2004), o excesso de cálcio diminui a solubilidade das proteínas em água. Este fato é corroborado por Viero (2008) que relatou que o leite classificado como LINA apresentou maior concentração de cálcio iônico e menor concentração de lactose que o leite normal. Relacionando-se a isto, Santos & Fonseca (2007) e Varnam & Sutherland (1995), agregam que a adição de citrato ao leite aumenta a estabilidade térmica em razão de seu efeito quelador do cálcio iônico.

Embora pela legislação vigente os leites que estejam abaixo de 18^oD possam ser utilizados sem restrição, Ribeiro *et al*, (2010) observou que na produção de iogurte batido, feito a partir de LINA, ocorreram alterações no tempo de fermentação, pH e viscosidade do produto.

A ocorrência de LINA tem sido amplamente estudada em diversas regiões do Brasil. Deficiências ocorridas durante vida do animal como manejo inadequado, não observação do bem-estar, higiene incorreta da ordenhadeira e dos utensílios da sala de ordenha, bem como as condições adversas decorridas durante o transporte do leite até a indústria podem levar à ocorrência de LINA. A baixa qualidade do leite pode ser um indicador de maus tratos ao rebanho ou o não cumprimento às normas de BPFs, existindo múltiplos fatores que podem individual ou coletivamente estar fazendo parte desse processo. As causas da instabilidade do leite não estão totalmente esclarecidas, contudo existem indicações de que a condição nutricional dos animais pode ocasionar reações positivas à prova do álcool.

O aumento da concentração de etanol na solução do teste do álcool propicia maior precipitação das proteínas, e por conseqüência pode levar ao descarte de leite

de forma injustificada. Dessa forma pode-se deduzir que nem sempre o resultado positivo no teste do álcool está relacionado com acidez elevada, por isso, alerta-se que o uso isolado do teste do álcool para identificação de acidez no leite, pode levar à obtenção de resultados falso-positivos.

Considerando o conjunto de dados apresentados, percebe-se que não há uma concordância entre os autores sobre as causas determinantes do LINA, tampouco sobre as possibilidades do aproveitamento deste leite.

Recomendam-se futuros estudos experimentais, buscando-se verificar outras formas de determinação de LINA, de modo a reduzir-se resultados falsos positivos.

5 CONSIDERAÇÕES

A condição do leite instável não ácido é um assunto ainda bastante controverso. Os dados disponíveis em literatura científica embora satisfatórios são bastante divergentes, não permitindo conclusões definitivas a respeito da origem da instabilidade do leite dentro da cadeia produtiva bem como da utilização industrial de um leite instável, contudo com acidez normal.

Avaliações da característica do leite pelo teste do álcool, constituem um valioso recurso para a seleção do produto destinado à indústria, porém é necessário que se conduzam estudos sobre outras formas de avaliação e determinação de LINA para evitar-se os resultados falso-positivos, pois nem sempre o resultado positivo no teste do álcool está relacionado com acidez elevada do leite.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.56 de 06 de novembro de 2008**. Estabelece os procedimentos Gerais de recomendações de Boas Práticas de Bem Estar para Animais de Produção e de Interesse Econômico – REBEM abrangendo os sistemas de produção e o transporte. Diário Oficial da República federativa do Brasil, Brasília, DF, 07 de novembro de 2008. Disponível em: www.mapa.gov.br. Acesso em 08.08.2010.
- BARROS, L. ***Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite***. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.44-57
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.51 de 18 de setembro de 2002**. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta do Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, Disponível em: www.agricultura.gov.br. Acesso em 24.10.2010.
- BRASIL. República federativa dos Estados Unidos do Brasil. Governo Provisório. **DECRETO 24.645, de 10 de julho de 1934. Estabelece medidas de Proteção aos animais**. Disponível em: www.agricultura.gov.br). Acesso em 05.12.2010.
- CARVALHO, I.C.. **Modificações na composição do leite**. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes. Juiz de Fora, v.32, n.192, p.15-26, 1977.
- CHAROPEN, Machado Sandro. **Fatores que afetam a estabilidade do Leite bovino**. Tese (Doutorado).2010. Faculdade de Agronomia. Programa de Pós

Graduação em Zootecnia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/26095> . Acesso em 04.11.2010.

- CREAMER, L.K.; PLOWMAN, J.E.; LIDDELI, M.J.; SMITH, M.H.; HILL, J.P. ***Micelle stability; κ -casein structure and function.*** Journal of Dairy Science, Savoy, v.81, p.3004-3012. 1998.
- DURR, J.W. Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite: uma oportunidade única. In: DURR, J.W. *et al.* (Ed). ***O compromisso com a qualidade do leite no Brasil.*** Passo Fundo: UPF, 2004. 331p.
- FISCHER, V.. ***Avaliação do leite na fazenda: impacto do uso do alizarol/álcool sobre a cadeia produtiva do leite.*** Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, 2010.
- FOX, P.F.; CONNOR, T.P.; MCSWEENEY, P.L.H. ***Cheese: physical, biochemical and nutritional aspects.*** Advances in Food and Nutrition Research. San Diego, v.39, p.63-328, 1996.
- HORNE, D.S.; PARKER, T.G. ***Factor affecting the ethanol stability of bovine-milk.*** Effecto of serum phase components. Journal of Dairy Research. V.47, p.273-284, 1981.
- _____,_____. ***Factors affecting the ethanol stability of bovine milk.*** Journal of Dairy Research. Cambridge. V.48. p.273-284. 1981.
- HOLT, C. ***Equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk.*** European Biophysical Journal. Heldelberg. V.33, p.421-434. 2004.

- LOPES, Ludmila Camargo . **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Costa branca, estado de São Paulo.** Dissertação (mestrado) 2008 –Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.
- MARQUES, L.T., FISCHER,V. ZANELA, M.B., STUMPF JUNIOR,W. RIBEIRO, M.E.R., VIDAL,L.E.B., RODRIGUES, C.M., PETERS,M.D.. **Suplementação de vacas holandesas em estágio avançado de lactação.** Ciência Rural v.40. n.6 Santa Maria Jun.2010. Disponível em: www.scielo.com.br. Acesso em 12.11.2010.
- MARQUES, L.T. **Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos.** 2004. 68f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- MARTINS, P.R.G., SILVA, C.A., FISCHER, V., RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JUNIOR, W., ZANELA, M.B. **Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelora-RS em diferentes meses do ano.** Departamento de Zootecnia, Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Ciência Rural. V. 36 n.1. Santa Maria jan./fev.2006.
- MOLINA, L.H., GONZALEZ, R., BRITO, C., CARRILLO, B., PINTO,M.. **Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero.** Archivos de Medicina Veterinária. Valdivia. V.33, n.2, p.233-240. 2001.
- NEGRI, L.; CHAVEZ, M.; TAVERNA, M. et al. **Fatores que afectan la estabilidad térmica y la prueba de alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada: Informe técnico final Del proyecto.** Rafaela: INTA EEA/INTI CITIL, 2001. 27p

- PERES, J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZALEZ, F.H.D., et al. **Uso do Leite para Monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. p.29-43
- PINHEIRO, Alice Andrioli & BRITO, Ismenia França. **Bem estar e Produção Animal**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: www.embrapa.br, acesso em 11.08.2010
- PINNA, M.H., LIZIEIRE, R.S., **Leite de Qualidade**. Revista do Conselho Federal de Medicina veterinária, Brasília, v.21 p.47-51, 2000.
- PONCE CEBALLO, P. **Síndrome do leite anormal e qualidade do leite**. In: Curso on line sobre qualidade do leite do Instituto Fernando Costa. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br> Acessado em: 17 nov. 2000
- PONCE, P. Síndrome do leite anormal e qualidade do leite. In: **1º Curso on line sobre qualidade do leite do Instituto Fernando Costa**. Disponível em: <http://milkpoint.com.br>. Acesso em 21.11.2010.
- RIBAS, N.P. **Programa de Análise de rebanhos leiteiros**. Anais do 1º Simpósio Internacional sobre qualidade do leite, Curitiba, p.58-67, 1998.
- RIBEIRO, M.E.R., STUMPF JUNIOR, W., BUSS, H. Qualidade de leite. In: BITENCOURT, D., PEGORARO, L.M.C., GOMES J.F. **Sistemas de pecuária de leite: uma visão na região de Clima Temperado**. Pelotas: Embrapa Clima temperado, 2000. p.175-195.

- RIBEIRO, M.E.R., KROLOW, A.C.R., BARBOSA, R.S., BORGES, C.D.; ZANELA, M.B.; FISCHER, V.; HAUSEN, L.J.V. **Ensaio preliminar sobre o efeito do leite instável não ácido (LINA) na industrialização do iogurte batido**. Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/o18.pdf>> . Acesso em 13.12.2010.
- ROMA JUNIOR, L.C.; ZAGO, C.A.; RODRIGUES, A.C.O.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F.. **Estudo da proteína do leite em termos de qualidade e quantidade**. Disponível em: <http://www.terraviva.com.br/IICBQL/P044.pdf> Acesso em 13.12.2010
- SANTOS, M.V., FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1 ed. Baruei: Manole, 2007.
- SCARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Editora Livraria Varela, 1996.
- SILVA, P.H.F. **Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e gelificação**. Tese (doutorado em ciências dos alimentos). 2003. Universidade Federal de Lavras. UFLA. p.147.
- SOBHANI, S.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. **Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows**. J. Dairy. Sci., v.85, Suppl. 1, p.58, 1998
- TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: UFSM, 1997. 166p.
- TUINER, R.; KRUIF, C.G. **Stability of casein micelles in milk**. Journal of Chemical Physics, Melville, v.117, p.1290-1295, 2002.

- VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Leche y productos lácteos**. Zaragoza: Acribia. 1995. p.474.
- VIERO, Vitório. **Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sangüíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido**. Dissertação (Mestrado). 2008. Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/14336>. Acesso em 04.11.2010
- VIEIRA, L. C., Kaneyoshi, C.M., Freitas, H. **Criação de Gado Leiteiro na Zona Bragantina**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.embrapa.br/fontes/html/leite/gadoleiteirozonabragantina/paginas/qualidade.htm>.. Acesso em 12.03.2011.
- ZANELA, M.B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do Sul, ocorrência e indução experimental do leite instável não ácido (LINA)**. Tese (Doutorado) 2004. 150p - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS
- ZANELLA, M.B., FISCHER, V., RIBEIRO, M.E.P., STUMPF JR, W., ZANELA, C., MARQUES, L.C., MARTINS, P.R.G. **Qualidade do Leite em sistemas de produção na região sul do Rio Grande do Sul**. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.41, p.153-159, jan. 2006. Disponível em: www.scielo.com.br. Acesso em 24.10.2010
- ZANELLA **Ocorrência do Leite Instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária, Zootecnia. Vol.51. n.4. Belo Horizonte. 2009
- WALSTRA, P.. **Casein sub-micelles: do they exist?** International Dairy Journal. Amsterdam. V.9, p.189-192. 1999.