

# Leite instável não ácido

Composição, Características e  
Ocorrência

Allan Afonso Passos  
Karyne Oliveira Coelho  
Rodrigo Balduino Soares Neves  
Cláudia Peixoto Bueno  
Organizadores

EDITORA  
**KELPS**



## CONSELHO EDITORIAL

### Presidente

Antonio Almeida

### Coordenação da Editora Kelps

Waldeci Barros

Leandro Almeida

### Conselho Editorial

Prof. Dr. Angel Marcos Dios (Universidad Salamanca - Espanha)

Prof. Dr. Antonio Donizeti Cruz (UNIOESTE, PR)

Profa. Dra. Bertha Roja Lopez (Universidade Nacional do Peru)

Profa. Dra. Berta Leni Costa Cardoso (UNEB)

Escritor Brasigóis Felício (AGL)

Prof. Dr. Divino José Pinto (PUC Goiás)

Profa. Dra. Catherine Dumas (Sorbonne Paris 3)

Prof. Dr. Francisco Itami Campos (UniEVANGÉLICA e AGL)

Prof. Dr. Iêdo Oliveira (UFPE)

Profa. Dra. Ivonete Coutinho (Universidade Federal do Pará)

Profa. Dra. Lacy Guaraciaba Machado (PUC Goiás)

Profa. Dra. Maria de Fátima Gonçalves Lima (PUC Goiás e AGL)

Profa. Dra. Maria Isabel do Amaral Antunes Vaz Ponce de Leão (Universidade Fernando Pessoa - PT)

Escritora Sandra Rosa (AGNL)

Profa. Dra. Simone Gorete Machado (USP)

Escritor Ubirajara Galli (AGL)

Escritor revisor

Prof. Me. Antônio C. M. Lopes

Allan Afonso Passos  
Karyne Oliveira Coelho  
Rodrigo Balduino Soares Neves  
Cláudia Peixoto Bueno  
Organizadores

**LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO:**  
Composição, Características e Ocorrência

1ª edição

Goiânia - Goiás  
Kelps, 2022

Copyright © 2022 by Allan Afonso Passos, Karyne Oliveira Coelho,  
Rodrigo Balduino Soares Neves e Cláudia Peixoto Bueno

**Editora Kelps**

Rua 19 nº 100 - St. Marechal Rondon  
CEP: 74.560-460 - Goiânia-GO  
Fone: (62) 3211-1616  
E-mail: [kelps@kelps.com.br](mailto:kelps@kelps.com.br)  
homepage: [www.kelps.com.br](http://www.kelps.com.br)

**Comissão Técnica**

Revisão: Rodrigo Balduino Soares Neves  
Projeto gráfico: Franco Jr.  
Capa: Victor Humberto Marques

CIP - Brasil - Catalogação na Fonte

Dartony Diocen T. Santos CRB-1 (1º Região) 3294

L533 Leite instável não ácido: composição, característica e ocorrência. / Allan Afonso Passos, Karine Oliveira Coelho, Rodrigo Balduino Soares Neves e Cláudia Peixoto Bueno (org.). – 1ª ed. – Goiânia : Editora Kelps, 2022. [E-book]

40 p.

ISBN: 978-65-5370-464-0

DOI: 10.29327/5202895

1. Produção. 2. Leite. 3. Composição. 4. Característica. I. Título.

CDU 636.03

O conteúdo da obra e sua revisão são de total responsabilidade dos autores.

**DIREITOS RESERVADOS**

É proibida a reprodução total ou parcial da obra, de qualquer forma ou por qualquer meio, sem a autorização prévia e por escrito dos autores. A violação dos Direitos Autorais (Lei nº 9610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Impresso no Brasil | *Printed in Brazil*  
2022



## AUTORES

### **Allan Afonso Passos**

Tecnólogo em Laticínios e Mestre em Desenvolvimento Rural Sustentável pela Universidade Estadual de Goiás.

### **Claúdia Peixoto Bueno**

Médica Veterinária, Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal de Goiás e Docente dos Cursos de Graduação em Medicina Veterinária, Zootecnia e do Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural Sustentável da Universidade Estadual de Goiás.

### **Edmar Soares Nicolau**

Médico Veterinário, Doutor em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas e Docente Aposentado da Universidade Federal de Goiás.

### **Karyne Oliveira Coelho**

Médica Veterinária, Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal de Goiás e Docente dos Cursos de Graduação em Medicina Veterinária, Zootecnia e do Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural Sustentável da Universidade Estadual de Goiás.

**Luana Rodrigues Costa**

Tecnóloga em Laticínios e Mestre em Rural pela Universidade Estadual de Goiás.

**Rodrigo Balduino Soares Neves**

Médico Veterinário, Doutor em Ciência Animal (UFG) e Docente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária e do Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural Sustentável da Universidade Estadual de Goiás.

# SUMÁRIO

## Capítulo 1

- **LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO:  
OCORRÊNCIA, CAUSAS E IMPACTO NA  
PRODUÇÃO DE LEITE E DERIVADOS .....8**  
*Luana Rodrigues da Costa*  
*Karyne Oliveira Coelho*  
*Rodrigo Balduino Soares Neves*  
*Allan Afonso Passos*

## Capítulo 2

- **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA  
E HIGIÊNICO SANITÁRIA DO LEITE  
INSTÁVEL NÃO ÁCIDO DE MISTIÇOS  
EM FUNÇÃO DAS ESTAÇÕES DO ANO .....25**  
*Allan Afonso Passos*  
*Karyne Oliveira Coelho*  
*Rodrigo Balduino Soares Neves*  
*Cláudia Peixoto Bueno*  
*Edmar Soares Nicolau*

# Capítulo 1

## LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO: OCORRÊNCIA, CAUSAS E IMPACTO NA PRODUÇÃO DE LEITE E DERIVADOS

*Luana Rodrigues da Costa*

*Karyne Oliveira Coelho*

*Rodrigo Balduino Soares Neves*

*Allan Afonso Passos*

O leite é um fluído retirado diretamente das glândulas mamárias de fêmeas bovinas, sendo obtido após a assepsia dos tetos de animais descansados, nutridos e saudáveis (BELOTI, 2014). O leite obtido possui cor branca levemente amarelada, com sabor e odor característicos (BRASIL, 2017). Os principais componentes do leite são a água (86,0 % a 88,0%), sólidos totais (12,0% a 14,0%), gordura (3,5% a 4,5%), proteína (2,9% a 3,5%), lactose (4,3% a 5,2%), sais minerais (0,7% a 0,8%) e vitaminas (SANTOS e FONSECA, 2007).

De forma genérica, os fatores metabólicos nutricionais que afetam a composição do leite são: fatores meio-ambientais, que incluem a nutrição (composição da dieta), tipo de alimentação (pastagem, ração, suplementos), manejo (nível de produção) e época do



ano, e fatores intrínsecos aos animais, divididos em genéticos, sanitários, grau de adaptação metabólica e período da lactação (TRONCO, 1997; SIMOES e OLIVEIRA, 2012).

A qualidade do leite é importante para a competitividade da atividade leiteira e para ampliação de mercados consumidores, interno e externo (BELOTI, 2014). No aspecto legal, a busca pela melhoria da qualidade do leite nacional iniciou em 2002, com a implementação do Programa Nacional de Melhoria da qualidade do Leite e a Instrução Normativa (IN) 51 (BRASIL, 2002), posteriormente substituída pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011) e Instrução Normativa 07 (BRASIL, 2016), atualmente IN 76 (BRASIL, 2018).

O padrão mínimo determinado para o leite com relação à composição físico-química são: 3,0% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato seco desengordurado. O número máximo de células somáticas (CCS) por mL de leite e a contagem bacteriana total (CBT) variam conforme a região e o ano de avaliação. Os valores máximos preconizados para CCS e CBT são crescentes, atualmente, são na região Centro Oeste são de 500 mil Cél/s/mL e 300 mil UFC/mL, respectivamente. Com relação à caracterização física, o leite deve apresentar acidez titulável entre 14 e 18°D, e necessita ser estável em solução alcoólica com no mínimo 72% v/v de álcool (BRASIL, 2012; BRASIL, 2018).

A estabilidade térmica do leite refere-se à resistência relativa do leite em suportar o tratamento térmico industrial sem sofrer coagulação (ZANELA e RIBEIRO, 2018). A prova do álcool é utilizada para avaliar a estabilidade do leite (MARQUES *et al.*, 2007; MACHADO *et al.*, 2017). É realizada, através da mistura de partes iguais de leite e álcool a 72% (STUMPF *et al.*, 2013), atuando como medida direta para a verificação da estabilidade das micelas de caseínas do leite cru, pela desidratação provocada pelo álcool, simulando

do o tratamento térmico (MARQUES *et al.*, 2007). Ressalta-se que o teor de álcool pode afetar o resultado da prova e cita-se uma maior frequência de LINA nos testes com 78% v/v e menor nos testes com 68% v/v (SILVA *et al.*, 2012; PASSOS, 2017).

O leite ácido ocorre devido à hidrólise da lactose provocada em meio ácido por microrganismos que estão em multiplicação e o tornando impróprio para o processamento na indústria e o consumo da população (MARQUES *et al.*, 2007). Entretanto, Fischer *et al.* (2011) relataram, que o LINA, apesar de instável e ser reprovado no teste do álcool, não é ácido, por estar entre 14°D a 18°D na prova de acidez. A indústria necessita descartar leites com problemas de acidez elevada e conhecer a estabilidade térmica do leite recebido na plataforma, a fim de possibilitar a escolha do destino da matéria prima recebida, sem causar prejuízos ao processamento (STUMP *et al.*, 2013).

A prova de estabilidade no teste do álcool ou alizarol, é um indicador de qualidade do leite, realizada rotineiramente nas propriedades rurais antes do recolhimento do leite na plataforma pelos transportadores e ao chegar às indústrias (MARQUES *et al.*, 2007; ZANELA e RIBEIRO, 2018). Essa avaliação é utilizada para estimar a estabilidade térmica do leite, ao homogeneizar partes iguais de leite e álcool (72% v/v), e ser classificado como LINA com acidez entre 14 - 18°D (BRASIL, 2011; STUMPF *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2019).

Os primeiros registros de precipitação de leite cru (LINA) à prova do álcool ocorreram na Holanda, em 1930; na atualidade tem distribuição cosmopolita, sendo identificado em vários países, dentre os quais: Japão (YOSHIDA, 1980), Itália (PECORARI *et al.*, 1984), Irã (SOBHANI *et al.*, 1998), Argentina (NEGRI *et al.*, 2001), Uruguai (BARROS *et al.*, 1999 e 2000) e Brasil (SOVINSKI *et al.*, 2014).

No Brasil, os estudos sobre a ocorrência do LINA, são relatados em vários Estados, dentre os quais: Rio Grande do Sul (SUÑÉ, 2010), Paraná (MARX *et al.*, 2011), Rio de Janeiro (DONATELE *et al.*, 2003), São Paulo (BOTARO, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2011), Minas Gerais (OLIVEIRA *et al.*, 2015), Mato Grosso (SOUZA, ROMERO e DA ROSA, 2016), Rio Grande do Norte (FARIA *et al.*, 2017) e Goiás (PASSOS, 2017).

Fagnani, Beloti e Battaglini (2014) relataram que a ocorrência de LINA no país é frequente, e que dependendo do período do ano, aproximadamente 20% a 30% do leite produzido são positivos. Rosa *et al.* (2017) observaram que a ocorrência do LINA é mais frequente no período seco; assim como Ponce e Hernandez (2001) em estudos realizados em Cuba; dados corroborados aos apresentados por Passos (2017) em avaliações de amostras de leite no Oeste-Goiano. Em Panambi a ocorrência mais elevada de LINA foi identificada nos meses de verão (ZANELLA e FISCHER 2007). Entretanto Voges *et al.* (2018) apontaram que a estação do ano tem pouca interferência sobre a ocorrência do LINA, especialmente, quando se tem um correto controle do manejo alimentar e de bem-estar dos animais.

Cita-se que a instabilidade proteica do leite pode ser causada por ação microbiana (leite ácido); mastite (leite alcalino) e LINA (SANTOS e FONSECA, 2007; BELOTI, 2014). Souza *et al.* (2011) coletaram 119 amostras de leite as quais apresentaram instabilidade ao teste do álcool, 78% das amostras foram indicadas como leite LINA e apenas 22% das amostras analisadas era realmente leite ácido. Marx *et al.* (2011) avaliaram 69 amostras de leite, sendo verificadas 16 amostras alcalinas, 8 ácidas e 23 consideradas como LINA. Oliveira *et al.* (2011) coletaram 217 amostras no período chuvoso e 234 amostras no período sem chuvas, avaliando 64,8% classificadas como LINA e 35,2% como leite ácido. Fagnani *et al.* (2016) in-

interpretaram 92 amostras como normal, 138 como LINA e 92 como leite ácido.

Fagnari *et al.* (2016) indicaram que o LINA pode permanecer estável durante a pasteurização; isso provavelmente, relaciona-se a causa do distúrbio. Molina *et al.* (2001) utilizaram amostras de leite LINA, onde realizaram o teste da fervura (100°C) e notaram que as amostras permaneceram estáveis, sem coagular, revelando-se que estas duas variáveis não estão completamente correlacionadas. Horne E Muir (1990) também concluíram que o teste de álcool e a estabilidade ao calor são diferentes entre si, pois observaram que o aquecimento se permite que ocorram várias reações que não ocorrem com a adição de álcool.

Cita-se que a causa de ocorrência de LINA não está completamente elucidada; suspeita-se que o fator nutricional como um dos principais fatores que relacionam ao distúrbio metabólico (STUMPF *et al.*, 2013; BELOTI, 2014), assim Fischer *et al.* (2011) e Rosa *et al.*, (2017) observaram a influência da alimentação na estabilidade do leite, onde tende-se a aumentar em condições de subnutrição e restrição alimentar. Chaves (2011) e Rosa *et al.* (2017) relataram que a restrição alimentar como sendo a causa mais frequente do LINA, os mesmos autores indicaram, que há poucos estudos indicando que questões genéticas, transtornos fisiológicos, metabólicos, estágio de lactação, idade, falta de higiene e época do ano relacionam a ocorrência do LINA; porém que estes devem ser considerados na avaliação dos rebanhos (ZANELA *et al.*, 2017).

Constata-se que o LINA é significativamente prevalente em estabelecimentos rurais com pequena produção leiteira, provavelmente associada às condições de alimentação e manejo nutricionais desfavoráveis (ZANELA *et al.*, 2009; MACHADO, 2010). Quanto a questão sanitária; Donatele *et al.* (2003) revelaram que não existe

relação entre a instabilidade do leite e a mastite, mas Oliveira *et al.* (2011) ressaltaram maior contagem de células somáticas no LINA ao comparar com o valor médio obtido para o leite estável.

O leite LINA ao ser processado tecnologicamente pode possuir um menor rendimento, e apesar das perdas, o leite LINA não oferece risco a saúde do consumidor (ZANELLA *et al.*, 2009). A deficiência da estabilidade do leite LINA causa alterações nas propriedades físico-químicas, onde interfere na qualidade e devido a isso é descartado pelas indústrias, gerando prejuízo para cadeia produtiva do leite (FAGNANI, BELOTI e BATTAGLINI, 2014).

O LINA apresenta variações na sua composição em relação ao leite normal (CHAVEZ *et al.*, 2004; ZANELA *et al.*, 2014; PASSOS, 2017). Cita-se menores teores de lactose e sólidos desengordurados no leite instável comparado ao leite estável (ZANELA *et al.*, 2017). Chavez *et al.* (2004) e Oliveira e Timm, (2007) detectaram redução de caseína no LINA. A menor concentração de componentes lácteos pode resultar em menor rendimento na produção de derivados lácteos (BELOTI, 2007).

A ocorrência do LINA causa significativos prejuízos a toda cadeia produtiva (incluindo produtores, indústria e ambiente), uma vez, que o leite é rejeitado ou subvalorizado pela indústria, mesmo que este apresente níveis de acidez considerados normais, estando apto para ser processado, dependendo do derivado lácteo (ROMA JUNIOR *et al.*, 2009; ZANELLA *et al.*, 2009).

O LINA industrializado apresenta impacto na qualidade do produto final, dentre os quais, observam-se: aumento no tempo de coagulação, menor rendimento, elevada retenção de água no coágulo e perda de proteínas no soro, entretanto, o produto lácteo feito com LINA não interfere na saúde do consumidor (RIBEIRO *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2018).

Ribeiro *et al.* (2006) ao processar o LINA para a elaboração do iogurte batido observaram que não houve alteração na viscosidade, no tempo de fermentação e sabor do produto final. Segundo Oliveira *et al.* (2007) o leite LINA reduz o rendimento da produção de queijos e adquire massa mole. Marques *et al.* (2007) ressaltaram que as composições do LINA com o leite estável são semelhantes.

O LINA pode ser pasteurizado lentamente e utilizado para a fabricação de lácteos sem apresentar risco a saúde do consumidor, desde que o leite apresente boas condições sanitárias e higiênicas previstas na legislação (TRONCO, 1997; BELOTI, 2014). No entanto, estudos que avaliaram o uso do LINA para a produção de derivados são escassos, apresentando necessidade de se determinar as características físicas, químicas e microbiológicas dos produtos e a vida de prateleira, especialmente, em queijos considerando que o leite pode ser pasteurizado diretamente nas queijomats.

## Referências

BARROS, L.; DENIS, N.; GONZALEZ, A.; GALAIN, C. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Prácticas Veterinarias**, Florida-Uruguay, v. 2, n. 9, p. 13-15, 1999.

BELOTI, V. **Leite: Obtenção, Inspeção e Qualidade**. Londrina: Editora Planta, 2014. 417 p.

BOTARO, B. G.; LIMA, Y. V. R.; CORTINHAS, C. S.; SILVA, L. F. P.; RENNÓ, F. P.; SANTOS, M. V. Effect of the kappacasein Gene Polymorphism, Breed and Seasonality Onphysicochemical Characteristics, Composition and Stability of Bovine Milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 12, p. 24472454, 2009.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, p. 13, 21 set. 2002. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 1-24.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 53, de 02 de Outubro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL - Metodologias Analíticas, Ingestão Diária Admissível e Limites Máximos de Resíduos para Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 02 de outubro de 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, DE 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 30 março. 2017, Seção 1. Página 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 7 de 04/05/2016. Aprova os Regulamen-

to 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.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 77, de 26 de Novembro de 2018. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, na Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, no Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que dispõe sobre os Procedimentos para a Produção, Acondicionamento, Conservação, Transporte, Seleção e Recepção do Leite Cru em Estabelecimentos Registrados no Serviço de Inspeção Oficial. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 2 julho. 2018, Seção 1. Página 2.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº76, de 26 de novembro de 2018. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, na Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, no Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que dispõe o Regulamentos Técnicos que Fixam a Identidade e as Características de Qualidade que Devem Apresentar o Leite Cru Refrigerado, o Leite Pasteurizado e o Leite Pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 30 novembro. 2018, Seção 1. Página 9

CHAVES, A. C. S. D. Leites. In: KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas Alimentícias: Composição e Controle de Qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 147-185, 2011.



CHAVEZ, M. S.; NEGRI, L. M.; TAVERNA, M. A.; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 71, n. 2, p. 201-206, 2004.

DAS DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. de L. F. Queijo minas artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, João Pessoa, v. 2, n. 2, p. 23-35, 2012.

DO VALE, R. C.; RODRIGUES, M. P. J.; MARTINS, J. M. Influência do tipo de fermento nas características físico-químicas de queijo Minas artesanal do serro – Minas Gerais, maturado em condições controladas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 73, n. 2, p. 82-90, 2018.

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. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 7, n. 110, p. 95-100, julho 2003.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. In: Silva, F. T. **Queijo Minas frescal**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011.

FAGNANI, R., BATTAGLINI, A. P. P., BELOTI, V., & DE ARAÚJO, J. P. A. Estabilidade do leite ao álcool: Ainda pode ser um indicador confiável?. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 17, n. 3, p. 386-394, 2016.

FAGNANI, R.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. P. Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 398-402, 2014.

FARIA, P. F.; RANGEL, A. H. N.; URBANO, S. A.; BORBA, L. H. F.; GALVÃO JÚNIOR, J. G. B.; SILVA, E. R. Unstable milk occurrence in the semiarid region and its relation with the physicochemical characteristics of milk. **Livestock Research for Rural Development**, Cali - Colombia, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2017.

FISCHER V.; ZANELA M. B.; RIBEIRO M. E. R.; MARQUES L. T.; ABREU A. S.; MACHADO S. C.; FRUSCALSO V.; BARBOSA R. S.; STUMPF M. T.; KOLLING G. J.; VIERO V. Leite instável não ácido (LINA): prevenção na propriedade leiteira e impactos nos laticínios. III, In: SIMLEITE, III, **Anais...** Viçosa: Universidade Federal Viçosa, p. 45-65. 2011.

HORNE D. S.; MUIR D, D. Alcohol and heat stability of milk protein. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 73, n. 12, p. 3613-3626, 1990.

LIU, D.; ZHANG, J.; YANG, T.; LIU, X.; HEMAR, Y.; REGENSTEIN, J. M.; ZHOU, P. (2019). Effects of skim milk pre-acidification and retentate pH-restoration on spray-drying performance, physico-chemical and functional properties of milk protein concentrates. **Food chemistry, Amsterdam**, v. 272, p. 539-548, 2019.

MACHADO, S. C. **Fatores que afetam a estabilidade térmica do leite bovino**. 2010. 132 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

MACHADO, S. C.; FISCHER, V.; STUMPF, M. T.; STIVANIN, S. C. B. Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 46, n. 4, p. 340-347, 2017.

MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JUNIOR, W.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (lina) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 1, p. 91-97, 2007.

MARX, I. G.; LAZZAROTTO, T. C.; DRUNKLER, D. A. COLLA, E. Ocorrência de Leite Instável não Ácido na Região Oeste do Paraná. **Revista Ciência Exatas e Naturais**, Guarapuava, v. 13, n. 1, p. 101-102, 2011.

MOLINA, L. H.; GONZÁLEZ, R.; BRITO, C.; CARRILLO, B.; PINTO, M. Correlación Entre la Termoestabilidad y Prueba de Alcohol de la Leche a Nivel de um Centro de Acopio Lechero. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 33, p. 233-240, 2001.

NEGRI, L.; CHAVEZ, M.; TAVERNA, M.; ROBERTS, L.; SPERANZA, J. Factores que Afectan la Estabilidad Térmica y la Prueba de Alcohol en Leche Cruda de Calidad Higiénica Adecuada. Informe técnico final del proyecto. Rafaela: INTA EEA/INTI CITIL, 2001. 27p.

OLIVEIRA, C. A. F.; LOPES, L. C.; FRANCO, R. C.; CORASSIN, C. H. Composição e Características Físico-químicas do Leite

Instável Não Ácido Recebido em Laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 2, p. 508-515, 2011.

OLIVEIRA, D S.; TIMM, C. D. Instabilidade da Caseína em Leite sem Acidez Adquirida. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 102, n. 561-562, p. 17-22, 2007.

OLIVEIRA, L. R.; OLIVEIRA, N. J. F.; GONÇALVES, A. F.; SANTOS, C. A.; MOURTHE, M. H. F.; MATIAS, A. D. Parâmetros físicos do leite e ocorrência de leite instável não ácido em diferentes municípios do norte de Minas Gerais. **Caderno de Ciências Agrárias**, Montes Claros, MG, v. 7, n. 1, p. 150-155, 2015.

PASSOS, A. A. **Qualidade de vida no trabalho**. 2017. 56f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Rural Sustentável) – Campus São Luís de Montes Belos - Universidade Estadual de Goiás, São Luís de Montes Belos, 2017.

PECORARI, M.; FOSSA, E.; AVANZINI, G. *et al.* Milk with abnormal coagulation: Acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. **Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia**, Parma, v. 35, n. 4, p. 263-278, 1984.

PINTO, M. S.; LEMPK, M. W.; CABRINI, C. C.; SARAIVA, L. K. V.; DA CRUZ CANGUSSU, R. R.; CUNHA, A. L. F. S. Características físico-químicas e microbiológicas do queijo artesanal produzido na microrregião de Montes Claros - MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 71, n. 1, p. 43-52, 2016.

PONCE, P.; 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**. Porto Alegre - RS: Gráfica UFRGS, 2001. p. 58-68.

RIBEIRO, M. E. R.; RIBEIRO, M. E. R.; KROLOW, A. C. R.; BARBOSA, R. S.; BORGES, C. D.; ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; VON, L. J. Ensaio preliminares sobre o efeito do Leite Instável Não Ácido (LINA) na industrialização do iogurte batido. In: **Anais... 9 Congresso Brasileiro de Qualidade do leite**. Goiânia-GO: Gráfica e Editora Talento. 2006.

ROMA JÚNIOR, L. C.; MONTOYA, J. F. G.; MARTINS, T. T.; MACHADO, P. F. Sazonalidade da proteína e outros componentes do leite e sua relação com programas de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 61, p. 1411-1418, 2009.

ROSA, P. P.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FLUCK, A. C.; ANGELO, I. D. V.; FERREIRA, O. G. L.; COSTA, O. A. D. Fatores etiológicos que afetam a qualidade do leite e o Leite Instável Não Ácido (LINA) REDVET. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Málaga, v. 18, n. 12, pp. 1-17, 2017.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole, 2007. 314 p.

SILVA, I. B.; DE ALMEIDA FIDELLES, J.; PASSOS, A. A.; NEVES, R. B. S.; BUENO, C. P.; COELHO, K. O. (2018, Abril). Ava-

liação sensorial do queijo muçarela p. In **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)** (ISSN 2447-8687). (v. 4), 2018.

SIMÕES, T. V. M. D.; OLIVEIRA, A. A. de. Mastite bovina: considerações e impactos econômicos. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, Aracaju, v. 170, n. 1678-1953, p. 25, 2012.

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

SOBRAL, D.; COSTA, R. G. B.; DE PAULA, J. C. J.; TEODORO, V. A. M.; MOREIRA, G. D. M. M.; PINTO, M. S. Principais defeitos em queijo minas artesanal: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 72, n. 2, p. 108-120, 2017.

SOUZA, H. P. M.; ROMERO, N. B.; DA ROSA, C. C. B. Ocorrência do leite instável não ácido (lina) na região norte do mato grosso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 71, n. 1, p. 38-42, 2016.

SOUZA, P. P. M.; SOARES, K. D. A.; LIMA FILHO, C. F.; MOTA, R. A.; SILVA, M. C. D.; MEDEIROS, E. S. Ocorrência do leite instável não ácido em vacas leiteiras no município de Viçosa - AL. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 17. n. 2, p. 144-147, 2011.

SOVINSKI, Â. I.; CANO, F. G.; RAYMUNDO, N. K. L.; BARCELLOS, V. C.; & DOS SANTOS BERSOT, L. Situação da co-

mercialização do leite cru informal e avaliação microbiológica e físico-química no município de Cafelândia, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 17, n. 3, p. 159-163, 2014.

STUMPF, M. T.; FISCHER, V.; MCMANUS, C. M.; KOLLING, G. J.; ZANELA, M. B.; SANTOS, C. S.; ABREU, A. S.; MONTAGNER, P. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, Oxford, v. 7, n. 7, p. 1137-1142, 2013.

SUÑÉ, R. W. A incidência de amostras de leite com reação positiva ao teste do álcool em diferentes concentrações na região da campanha do Rio Grande do Sul e a relação com a acidez titulável no acidímetro de Dornic. **Embrapa Pecuária Sul**. Bagé, RS, v. 260, p. 113, nº 1982-5390, 2010.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 4. ed. Santa Maria: UFSM, 1997, 206p.

VOGES, J. G.; FELIPUS, N. C.; CANABARRO, L. O.; KNOB, D. A.; NETO, A. T. Relação da Infraestrutura da Propriedade e Alimentação dos Animais na Ocorrência de Leite Instável não Àcido no Planalto Norte de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 19, p. 1-13, 2018.

YOSHIDA, S. Studies in the Utrecht abnormality of milke in the Miyuki Dairy Farm. Journal of the Faculty of Japanese Applied Biology Science Hiroshima University, Kyoto, v. 19, n. 1, p. 39-54, 1980.

ZANELA, M. B.; KOLLING, G. J.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V. Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool In: Leite instável. Desafios en el Cono Sur.1 ed. Montevideo - Uruguay: Universidad de la República, v. 1, p. 9-16, 2014.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; DE BARROS MELO, W. L. LINA: passado, presente e futuro. Evolução da pesquisa em pecuária leiteira, 2017, 27p.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R. LINA-Leite Instável Não Ácido. Embrapa Clima Temperado-Comunicado Técnico (INFO-TECA-E), Pelotas, RS, v. 356, n. 1516-8654, 2018.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 4, p. 1009-1013, 2009.

ZANELLA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; MARQUES, L. T.; STUMPF, W.; ZANELA, C. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 41, n. 5, p. 835-840, 2006.



## Capítulo 2

# CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E HIGIÊNICO SANITÁRIA DO LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO DE MESTIÇOS EM FUNÇÃO DAS ESTAÇÕES DO ANO

*Allan Afonso Passos*  
*Karyne Oliveira Coelho*  
*Rodrigo Balduino Soares Neves*  
*Cláudia Peixoto Bueno*  
*Edmar Soares Nicolau*

### Introdução

O leite Instável não Ácido (LINA) é definido pela não estabilidade da caseína sob condições normais de acidez, mas em contrapartida, esse leite não suporta a prova do álcool, em diferentes concentrações utilizadas pelas indústrias laticinistas (ZANELLA *et al.*, 2009; FAGNANI *et al.*, 2016).

A prova do álcool é uma análise realizada pelas indústrias para simular se o leite é capaz de resistir as etapas que o mesmo será submetido durante as etapas de produção, especialmente o processo de pasteurização (ZANELA *et al.*, 2015; MACHADO *et al.*, 2017). O indicador para o resultado positivo é a formação de grumos no

momento da análise que é realizada ainda na propriedade no momento da coleta do leite. Segundo Brasil (2011) o leite deve ter invariabilidade mínima ao alizarol a uma concentração de 72%.

A ocorrência de LINA não podem ser atribuído a um fator isolado, mas sim há vários fatores, tais como: estágio da lactação (BARROS *et al.*, 1999), estações do ano (SOUZA *et al.*, 2017), alimentação (ZANELA *et al.*, 2006; FRUSCALSO *et al.*, 2013; RATHNAYAKE *et al.*, 2016), raças (ROBITAILLE *et al.*, 2001), complicações digestivas metabólicas e concentrações alcoólicas dos testes realizados (FISHER *et al.*, 2012, RATHNAYAKE *et al.*, 2016).

Outras possíveis causas relacionam-se a quantidade de cálcio iônico presente no leite (TSIOULPAS *et al.*, 2007), mudança em fatores que afetam a permeabilidade das junções apertadas das células da glândula mamária (STUMPF *et al.*, 2013). Cita-se ainda, que a ocorrência de LINA é superior em bovinos com alto potencial genético (ZANELA *et al.*, 2006). Botaro *et al.* (2009) citaram maior predisposição de LINA na raça Girolando, em relação à Holandesa.

Os constituintes do leite são relativamente constante; porém esses níveis podem sofrer alterações de acordo com o estado metabólico dos animais (FISCHER *et al.*, 2011). Assim estudos citam diferenças nos componentes do leite instável não ácido em relação ao leite estável (ZANELA *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2011 e FISCHER *et al.*, 2011). Martins *et al.* (2015) detectaram aumento dos níveis de cloreto no leite LINA.

O leite instável não ácido apresenta teores inferiores de proteína e lactose (ZANELA *et al.*, 2006). Contudo teores de Gordura são mais elevados no LINA em qualquer estação do ano (OLIVEIRA e TIMM, 2006; MARQUES *et al.*, 2007 e OLIVEIRA *et al.*, 2011). No entanto, há estudo, que não detectaram diferenças entre leite estável e LINA (RATHNAYAKE *et al.*, 2016).

Objetivou-se caracterizar e relacionar os componentes do LINA, sob diferentes graduações de álcool, ao do leite estável, de animais mestiços, durante as diferentes estações do ano.

## **Material e Métodos**

Foram coletadas 272 amostras de leite, em 08 municípios do Oeste Goiano, sendo eles: São Luís de Montes Belos, Firminópolis, Turvânia, Anicuns, São João da Paraúna, Aurilândia, Córrego do Ouro e Sanclerlândia. As propriedades foram escolhidas aleatoriamente, não priorizando nenhum tipo ou de características de produção, exceto, a existência apenas de animais mestiços. As coletas foram realizadas contemplando as quatro estações do ano de 2016, sendo: Outono (68), inverno (69), primavera (67) e verão (68).

As amostras foram coletadas na quantidade aproximada de 250 mL e colocadas em frascos plásticos, após a coleta as amostras foram imediatamente colocadas em caixas térmicas e imediatamente enviadas para o laboratório de análise físico-química do Laticínio Escola da Universidade Estadual Goiás para a realização das seguintes análises: Alizarol, utilizando diferentes graduações alcoólicas, (70°GL, 72°GL, 74°GL, 76°GL, 78°GL, 80°GL), crioscopia, fervura e acidez dornic. Todas as análises descritas foram realizadas de acordo com a IN 68 (BRASIL, 2006). As amostras foram classificadas em: LINA, os leites que apresentaram acidez titulável de 14 a 18°D, precipitação na prova do álcool; leite estável: com acidez titulável entre 14 e 18°D e não precipitados na prova do álcool e leites ácidos: com acidez titulável superior a 18°D.

No momento da coleta, também foram amostrados dois frascos, contendo 40 mL de leite, diretamente dos tanques de refrigeração, visando o envio para realização das análises de contagem bacteriana total (CBT), contagem de células somáticas (CCS) e compo-

sição, que foram realizadas no laboratório de qualidade do leite da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (LQL/EVZ/UFG). A determinação da CBT e CCS foi realizada pelo princípio analítico de citometria de fluxo (Foss, 2001; Delta Instruments, 2007). As determinação dos percentuais de gordura, proteína, caseína, lactose e sólidos totais foram obtidos por meio da espectrofotometria por radiação infravermelha (Lactoscan, Milkotronic, Bulgária). A porcentagem de sólidos desengordurados foi calculada com base nos sólidos totais, subtraída a porcentagem de gordura.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e as variáveis analisadas foram pH, porcentagem de gordura, de proteína, de lactose, de extrato seco total (EST) e de sólidos não gordurosos (SNG), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT). Os parâmetros (CCS e CBT) foram normalizadas por transformação logarítmica. Os dados foram submetidos à análise de variância com os efeitos das quatro estações do ano, comportamentos do leite (Estável e LINA) e interação das estações e os comportamentos do leite. As médias dos componentes analisados, em relação às estações do ano, foram submetidas ao Teste de *Tukey*. A ocorrência de LINA nas quatro estações do ano foi analisada pelo teste de qui-quadrado. Para as análises foi utilizado  $\alpha = 5\%$  e o software *Bioestat 5.6*.

## **Resultados e Discussão**

Das 272 amostras de leite cru refrigerado analisadas, todas apresentaram crioscopia dentro do padrão, nove apresentaram anormalidade no parâmetro de acidez Dornic (14 - 18°D), sendo: oito ácidas (>18°D) e uma alcalina (<14°D); de acordo com os parâmetros de acidez exigidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (Brasil, 2011). Apesar de o número de amostras

que apresentaram positividade diante da prova do álcool ter sido de 35 amostras, apenas 26 destas, foram classificadas como leite instável não ácido (LINA) com acidez entre 14-18°D, isto considerando o padrão de 72%. O restante das amostras apresentou acidez superior ao permitido pela legislação (>18°D).

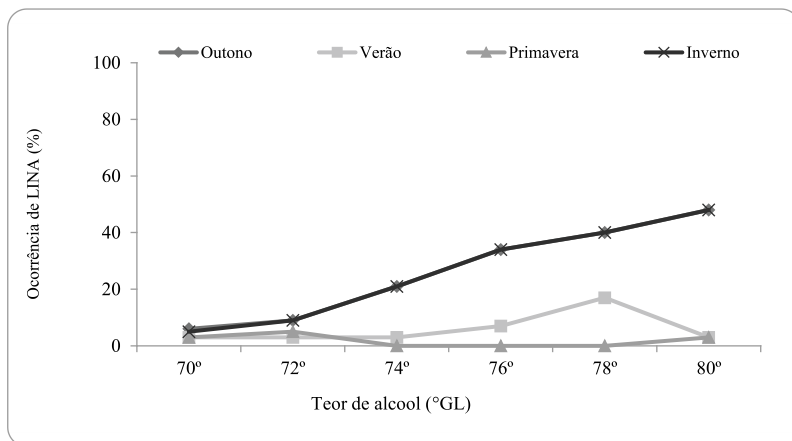
Os resultados de ocorrência de LINA (9,56%) são inferiores ao obtido por Oliveira *et al.* (2011) que detectaram amostras positivas, a prova do álcool a 72%, com valores relativamente altos, sendo 36,18% nos períodos chuvoso e 41,90% no período de estiagem. Zanella *et al.* (2006), também observaram ocorrências superiores (55,2%) em leites amostrados no estado do Rio Grande do Sul. Souza *et al.* (2016) realizaram coletas de 486 amostras, entre os meses de novembro e junho de 2013, nos municípios de Sinop e Lucas do Rio Verde, detectaram que 24 amostras (13,9%), foram consideradas leite LINA. Essas variações encontradas, podem ser atribuídas há vários fatores, já que não se tem uma causa exclusiva para a ocorrência do leite LINA, com maior ocorrência de chuvas, teoricamente são períodos com maior oferta de pastagens para a alimentação das vacas, conseqüentemente tem-se animais com uma alimentação mais balanceada. Outros fatores que podem influenciar na ocorrência desse fenômeno estão associados ao períodos de lactação, raças e exposição desses animais à altas temperaturas.

Considerando a amostragem estudada (n = 272), o alizarol ou a prova do álcool 72%, indicaria como inapto para o processamento térmico 35 amostras, enquanto apenas 22 realmente precipitaram na prova da fervura. Portanto, ressalta-se que o teste do álcool como um indicador de estabilidade não é completamente confiável. Oliveira *et al.* (2011) salientaram a necessidade de uma intervenção do MAPA para que seja estabelecida regras ou alternativas para que as indústrias evitem estas distorções. Porém, Machado *et al.*, (2017) indicaram que a prova do álcool, constitui-se em um excelente teste

de triagem, portanto, a prova deve-se ser realizada com critério, para que não haja descarte ou desvalorização errôneas da matéria prima.

Observam-se que de acordo com o aumento da concentração alcoólica ( $\geq 74\%$ ) tem-se proporcionalmente um número maior de amostras que se precipitam em contato com o álcool, especialmente, nas estações de outono e inverno. A ocorrência do LINA em animais mestiços na região Oeste do estado de Goiás é elevada, e apresenta variação sazonal, com maior incidência no período de seca (inverno e outono), conforme pode ser visualizado na Figura 1.

Figura 1 - Ocorrência de leite instável não ácido (LINA), em rebanhos mestiços, sob diferentes concentrações alcoólicas e estações do ano, 2016.



Estudos realizados visando a determinação do efeito do teor de álcool sobre a ocorrência de LINA, também observaram maior positividade da prova com graduações superiores a 72% (MOLINA *et al.*, 2001; RATHNAYAKE *et al.*, 2016).

Souza *et al.* (2016) analisaram 486 amostras sendo que 35,4% das mesmas foram instáveis ao etanol 72%. As coletas foram realizadas em dois municípios do estado do Mato Grosso, entre os meses de novembro a junho, que compreende a estação de chuva, na região. Consequentemente período de melhores condições para o fornecimento de pastagens com uma melhor qualidade aos animais. Em relação ao etanol com uma concentração de 76% as estações, Outono e Inverno, obteve uma instabilidade média de 34%. Os resultados encontrados para a ocorrência de leite LINA levando se em consideração o etanol 76% foram inferiores em relação a resultados obtidos por Marques *et al.* (2007) é próximos ao resultado verificados por Zanela *et al.* (2009).

Marques *et al.* (2007) encontraram maior ocorrência de LINA na região sul do Brasil em março (82% das amostras analisadas instáveis ao etanol 76%), e valores menores em janeiro (33% das amostras instáveis ao etanol 76%). De maneira paralela, Zanela *et al.* (2009) também descrevem alta ocorrência de LINA (55% das amostras analisadas instáveis ao etanol), essas variações ocorreram de acordo com os períodos distribuídos em um ano. Com isso, Marques *et al.* (2007) e Zanela *et al.* (2009) vincularam a ocorrência de LINA com épocas de privação de pastagens, devido à falta de chuvas, simultaneamente ocorre a deficiência das pastagens. Outro fator associado é referente ao compartilhamento de áreas de pastagem com outras atividades, como o plantio de soja que ocorre no verão, respectivamente.

Outro parâmetro avaliado foi a alteração dos componentes do leite estável e leite LINA com etanol a 72° (%), de acordo com os parâmetros de gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD), exigidos pelo MAPA (Brasil, 2011). Como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição do leite de vacas mestiças, estável e LINA a 72°, em diferentes estações do ano, 2016.

<b>Estação</b>	<b>Gordura</b>	<b>Proteína</b>	<b>Lactose</b>	<b>EST</b>	<b>ESD</b>
<b>Outono</b>					
<b>Lina</b>	3,73 ±	3,22 ±	4,52 ±	12,49 ±	8,76 ±
	0,51A	0,24aA	0,16	0,68	0,26
<b>Estável</b>	3,58 ±	3,17 ±	4,46 ±	12,32 ±	8,64 ±
	0,42A	0,18bA	0,14	0,58	0,24
<b>Verão</b>					
<b>Lina</b>	3,75 ±	3,46 ±	4,61 ±	12,87 ±	8,97 ±
	0,51B	0,16aB	0,13	0,38	0,47
<b>Estável</b>	3,80 ±	3,35 ±	4,62 ±	12,97 ±	9,16 ±
	0,51B	0,18bB	0,15	0,21	0,26
<b>Primavera</b>					
<b>Lina</b>	3,24 ±	3,34 ±	4,51 ±	13,11 ±	8,98 ±
	1,27B	0,16aB	0,11	1,11	0,21
<b>Estável</b>	3,33 ±	3,48 ±	4,61 ±	12,89 ±	8,95 ±
	0,51B	0,16bB	0,14	0,63	0,23
<b>Inverno</b>					
<b>Lina</b>	3,41 ±	3,03 ±	4,48 ±	12,11 ±	8,62 ±
	0,61A	0,47aA	0,16	0,66	0,91
<b>Estável</b>	3,43 ±	3,19 ±	4,48 ±	12,07 ±	8,53 ±
	0,72A	0,45bA	0,14	0,97	0,96

LINA: Instabilidade na prova do álcool na concentração mínima de 72% e acidez entre 14 - 18°D. EST: Sólidos totais. ESD: Sólidos não gordurosos. \*Médias seguidas de letras diferentes “minúsculas” apresentam diferenças no Teste T ( $p < 0,05$ ), quanto a comparação do LINA ao estável e “maiúsculas” apresentam diferenças, quanto a comparação das diferentes estações.

A lactose, EST e ESD do LINA não obteve diferença significativa em relação ao leite estável. Contudo destaca-se que a ocorrência do leite LINA influenciou de maneira negativa os teores de proteína, independentemente da estação do ano. Na estação inverno



teores de proteína e gordura do leite LINA foram menores do que o leite Estável.

Thomar e Nicolai (2015) concluíram que a proteína a-1 caseína, que é parte da caseína, aumentou progressivamente de acordo com a resistência do leite ao etanol. Lin *et al.* (2016) mostraram que níveis de  $\kappa$ -,  $\beta$ -caseína,  $\alpha$ S1 e  $\alpha$ S2 foram maiores em todas as amostras de leite de leite estável. Dados similares aos de Zanela *et al.* (2009) obtiveram em estudo realizado no Rio Grande do Sul, sendo que em amostras consideradas leite LINA, apresentam a redução do teor de proteína. Para os demais componentes gordura, lactose, EST e ESD, não houve diferença nos níveis em relação ao leite Estável e leite LINA.

Outro componente que também sofreu redução foi o teor de gordura. Comparando o leite Estável e o leite LINA, o último citado apresentou níveis menores de composição também na estação inverno. Não se pode afirmar ao certo a causa específica desse problema que afeta de maneira negativa não só o setor produtivo mas toda a cadeia láctea de uma maneira geral. Porém vários autores apontam uma das possíveis causas a questão da sazonalidade que é o período das estações secas nas várias regiões do país. Souza *et al.* (2013), Oliveira *et al.* (2011), Zanela *et al.* (2009) e Marques *et al.* (2007). Insuficiência de nutrientes totais fornecidos na dieta desses animais, causadas justamente no período de estiagem.

Pode ocorrer redução de proteína e gordura na estação inverno, devido ao período de estiagem na região Centro-Oeste do país, conseqüentemente, a escassez de alimento, já que a disponibilidade das pastagens fica comprometida, isso ocasiona possíveis distúrbios a nutrição o que pode influenciar a composição do leite. Os resultados encontrados foram semelhantes aos detectados por Thomar e Nicolai (2015) e Lin *et al.* (2016).

A respeito da variação de componentes e instabilidade do leite devido as raças dos animais, Fonseca e Santos (2000), concluíram

que o leite oriundo de animais da raça Jersey contém uma maior acidez devido ao maior teor de sólidos. Zanela *et al.* (2006) indicaram que a restrição alimentar de 40%, nas exigências nutricionais de matéria seca, proteína e energia, aumenta a ocorrência de leite instável não-ácido em vacas Jersey, quando se utiliza álcool 76% na avaliação da instabilidade.

No que tange as características higiênico-sanitárias observam-se os resultados na Tabela 2.

Tabela 2 - Efeito dos diferentes comportamentos do leite de vacas mestiças, estável e LINA, sobre as características higiênico-sanitárias separados pelas estações do ano

<b>Estação</b>	<b>CCS (log10 céls/mL)</b>	<b>CBT (log10 UFC/mL)</b>
<b>Outono</b>		
<b>Lina</b>	5,62 ± 2,22a	5,55 ± 2,08a
<b>Estável</b>	5,58 ± 2,21a	5,54 ± 2,01a
<b>Verão</b>		
<b>Lina</b>	5,96 ± 2,78b	6,01 ± 2,56b
<b>Estável</b>	5,98 ± 2,57b	6,05 ± 2,86b
<b>Primavera</b>		
<b>Lina</b>	5,55 ± 2,12a	5,49 ± 2,17a
<b>Estável</b>	5,67 ± 2,28a	5,51 ± 2,12a
<b>Inverno</b>		
<b>Lina</b>	5,63 ± 1,98a	5,65 ± 2,08a
<b>Estável</b>	5,55 ± 1,58a	5,60 ± 2,18a

LINA: Instabilidade na prova do álcool na concentração mínima de 72%, e acidez entre 14 - 18°D. CCS: Contagem de células somáticas. CBT: Contagem bactéria total. \*Médias seguidas de letras diferentes “minúsculas” apresentam diferenças no Teste T ( $p < 0,05$ ) quanto as diferentes estações do ano.

Não houve diferença entre CCS e CBT na comparação do leite estável em relação ao leite LINA. Porém a CCS e CBT apresentaram valores superiores na estação verão. Fator que pode ser relacionado com o período de chuvas na região, o que dificulta o manejo de ordenha, fatores que determinam mudanças na CCS e CBT, dados que são corroborados aos observados por Bueno *et al.*, (2005) e Bueno *et al.*, (2008) que detectaram que o log da CCS e CBT, respectivamente, em amostras de leite colhidas no estado de Goiás, no período das chuvas foi significativamente maior do que no período das secas. Philpot e Nickerson (2002) ressaltaram que a CCS pode aumentar nos meses mais quentes do ano em decorrência da menor produção de leite e consequente concentração das células somáticas. Alia-se a isso a maior probabilidade de ocorrência de infecção intramamária, indiscutivelmente, o principal fator responsável com a elevação da CCS (BUENO *et al.*, 2005).

Os resultados do presente trabalho foram diferentes aos obtidos por Zanela *et al.* (2009) e Silva *et al.* (2012) que identificaram correlação positiva do leite LINA ao aumento da CCS. Sabe-se que os lisossomos das células somáticas contêm enzimas proteolíticas, dentre as quais a catepsina D, que pode produzir para- $\kappa$ -caseína e caseínomacropéptido a partir da  $\kappa$ -caseína que em altas concentrações, pode causar a coagulação do leite, tornando, consequentemente, as amostras positivas ao teste do álcool (HURLEY *et al.*, 2000). No entanto, tal fato não ocorreu neste trabalho, devido possivelmente as baixas CCS apresentadas nos períodos avaliados, portanto, esperava-se a não relação direta entre a CCS e a ocorrência do leite LINA, já que as maiores CCS foram de 500 mil céls/mL. Porém, Negri *et al.* (2001) analisaram 85 amostras de leite provenientes de unidades de produção leiteira, os pesquisadores detectaram menor CCS no leite instável do que no leite estável. Oliveira *et al.*, (2011) detectaram menor CCS no leite instável do que no leite

com reação negativa. A contagem de células somáticas foi significativamente superior no leite instável não ácido, quando comparada com o valor médio obtido para o leite estável, independentemente da época do ano.

Donatele; Vieira e Folly (2003) indicaram não haver relação entre a positividade do leite ao teste do alizarol 72% e a CCS. Na referida pesquisa, 62% das amostras positivas ao alizarol, apresentaram resultados inferiores a 300.000 células somáticas por mililitro de leite. Oliveira *et al.* (2011) encontraram resultados semelhantes, no quesito CCS, não obtiveram diferenças significativas entre as amostras estáveis e as de LINA, independente da estação do ano.

## Conclusão

O aumento da ocorrência do (LINA), a redução dos teores de proteína e gordura, estão diretamente relacionados ao período de estiagem e ao teor de álcool das provas, realizadas em leite de animais mestiços.

## Referências

BARROS, L. *et al.* Prueba del alcohol em leche y relación com calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, v. 9 (s/n), p. 315-318, 1999.

BOTARO, B. G. *et al.* Effect of the kappa-casein gene polymorphism, breed and seasonality on physicochemical characteristics, composition and stability of bovine milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2447-2454, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Altera a Instrução Normativa MAPA nº 51, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, dezembro de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p. 8.

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

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

DELTA INSTRUMENTS, An Advanced Instruments Company. **LactoScope FTIR user's guide**. Milk and Liquid Dairy Product Analyzer. Netherlands: Delta Instruments, 2007. 138p.

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, s/n, p. 95-100, 2003.

FAGNANI, R. *et al.* Is ethanol stability of milk a reliable test? **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 386-394, 2016.

FISCHER, V. *et al.* Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 838-849, 2012.

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

FOSS ELECTRIC. **BactoScan FC Type 73700**: Reference Manual. Hillerod, 2001.

FRUSCALSO, V. *et al.* Feeding restriction impairs milk yield and physicochemical properties rendering it less suitable for sale. **Scientia Agrícola**, v. 70, n. 4, p. 237-241, 2013.

LIN, Y. *et al.* Fortification of milk protein content with different dairy protein powders alters its compositional, rennet gelation, heat stability and ethanol stability characteristics. **International Dairy Journal**, v. 61, n. 1, p. 220-227, 2016.

MACHADO, S. C. *et al.* Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 4, p. 340-347, 2017.

MARQUES, L. T. *et al.* Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físicos químicos do leite. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 13, n. 5, p. 91-97, 2007.

MARTINS C. M. *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, n. 4, p. 2650-61, 2015.

MOLINA, L. H. *et al.* Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 33, n. 2, p. 233-240, 2001.

OLIVEIRA, C. A. F. D. *et al.* Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 508-512, 2011.

OLIVEIRA, D. S., TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 259-263, 2006.

PHILPOT, N. W.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Piracicaba: Westfalia Surge/Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192p.

RATHNAYAKE, R. *et al.* Changes in compositional and keeping quality parameters of cow milk on ethanol stability. **International Journal of Livestock Research**, v. , 6, n. s/n, p. 83-89, 2016.

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**, v. 67, n. 384, 2012.

SILVEIRA, T. M. L.; FONSECA, L. M.; LAGO, T. B. N. Comparação entre o método de referência e a análise eletrônica na determi-

nação da contagem de células somáticas do leite bovino. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 1, p. 128-132, 2005.

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 Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 1, p. 38-42, 2016.

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. 1, p. 1137-1142, 2013.

THOMAR, P.; NICOLAI, T. Dissociation of native casein micelles induced by sodium caseinate. **Food Hydrocolloids**, v. 49, s/n, p. 224-231, 2015.

TSIOULPAS, A.; LEWIS, M. J.; GRANDISON, A. S. Effect of minerals on casein micelle stability of cows' milk. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 02, p. 167-173, 2007.

ZANELA, M. B. *et al.* Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, n. 5, p. 835-840, 2006.

ZANELA, M. B. *et al.* Ocorrência do leite instável não no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 6, p. 1009-1013, 2009.