

LÍGIA RODRIGUES DE OLIVEIRA

**PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE E OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO  
ÁCIDO NO NORTE DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Animal.

Orientadora: Neide Judith Faria de Oliveira

Coorientador: Raphael Rocha Wenceslau

Montes Claros-MG

2016

## FICHA CATALOGRÁFICA

O48p Oliveira, Lígia Rodrigues.

Parâmetros de qualidade do leite e ocorrência de leite instável não ácido no Norte de Minas Gerais / Lígia Rodrigues de Oliveira. Montes Claros - MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.  
65 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador(a): Neide Judith Faria de Oliveira.

Banca examinadora: Mário Henrique França Mourthé, Leorges Moraes da Fonseca, Maximiliano Soares Pinto.

Inclui referências: f. 62-65.

1. Acidez titulável. 2. Estabilidade protéica. 3. Processamento industrial.  
4. Estabelecimentos leiteiros. I. Oliveira, Neide Judith Faria. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias.  
III. Título.

CDU: 637.1

LÍGIA RODRIGUES DE OLIVEIRA

**PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE E OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO  
ÁCIDO NO NORTE DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Animal.

Área de concentração: Produção Animal

Linha de Pesquisa: Manejo e Criação de Animais

Orientadora: Neide Judith Faria de Oliveira

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Profº. Leorges Moraes da Fonseca  
(UFMG-BH)

Profº. Mário Henrique França Mourthé  
(ICA- UFMG)

Profº. Maximiliano soares Pinto  
(ICA-UFMG)



---

Profª. Neide Judith Faria de Oliveira  
Orientadora (ICA/UFMG)

Montes Claros, 20 de junho de 2016.

Aos meus pais Geraldo Gomes de Oliveira e Anita Rodrigues de Brito, aos meus irmãos, amigos e a minha orientadora Neide Judith Faria de Oliveira, que compartilharam desse desafio, dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ser sempre o meu horizonte, o Pai protetor com quem posso contar.

Aos meus pais, Geraldo Gomes e Anita Rodrigues, pelo amor incondicional a que me dedicaram, por proporcionarem esse caminho de estudo e me tornado quem eu sou.

Aos irmãos Lânio, Josman, Jusa, cunhadas, amigos e tios que me incentivaram e colaboraram nesse processo.

Ao meu tio Jácil Rodrigues de Brito e ao Pascal Peuzé pela acolhida, confiança e incentivo ao meu trabalho.

Ao amigo Claudinei pela amizade e apoio ao trabalho, aos colegas de pós-graduação, Suely, Allana, Amanda, Edvaldo, Luana, Evely Giovana, Edna Helenice, Andressa, entre outros que foram importantes em incentivo e apoio quando foi necessário.

Ao Cláudio Geraldo Lopes, a Abigail Duarte Mathias e aos funcionários do laticínio pelo apoio ao desenvolvimento deste trabalho, a disponibilidade para a coleta de dados, esforço e disposição na obtenção de informações, tornando possível a sua execução.

A minha orientadora, Doutora Neide Judith Faria de Oliveira, por me aceitar como orientanda, pela disponibilidade, atenção e confiança no meu trabalho. Obrigada pela dedicação, carinho e compreensão em todo esse período de orientação.

Aos professores, Raphael Rocha Wenceslau, Maximiliano Soares Pinto e Mario Henrique França Mourthé, a sabedoria e ensinamentos transmitidos e a ajuda indispensável à elaboração deste trabalho.

À Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) ao suporte financeiro para a realização desta pesquisa.

A todos.

Muito obrigada!

*"A experiência vale à pena".*

*Clarice Lispector*

*"A experiência humana não seria tão rica e  
Gratificante se não existissem obstáculos a superar.  
O cume ensolarado de uma montanha não seria tão  
maravilhoso se não existissem vales sombrios  
a atravessar".*

*Helen Keller*

## RESUMO

Pouco se conhece a respeito da influência do leite instável não ácido (LINA) sobre a qualidade do leite em regiões tropicais semiáridas. Pesquisas em diferentes locais e sistemas de produção podem contribuir para explicar essa alteração. Objetivou-se verificar parâmetros físico-químicos de qualidade do leite e ocorrência de LINA no Norte de Minas Gerais, a partir de banco de dados de laticínio. Coletaram-se informações no Norte de Minas Gerais de janeiro a dezembro de 2014, correspondendo a 10.654 amostras, oriundas de unidades produtoras de leite, distribuídas na região. Foram avaliados efeitos dos meses, das rotas e de estação do ano sobre as amostras classificadas como normais, LINA, alcalinas e ácidas. Além disso, verificou-se a implicação dessas variáveis quanto à ocorrência de alíquotas fora dos padrões, em relação à acidez titulável, densidade e crioscopia. Análises de Qui-quadrado, de variância, correspondência simples e múltipla, agrupamento, discriminante, regressão logística e de correlação foram realizadas para obtenção dos resultados discutidos. A frequência geral de amostras classificadas como normais foi 79,46%; LINA, 12,93%; leite ácido, 3,48% e alcalino 4,14%. Maior ocorrência de LINA foi observada em setembro, outubro e novembro, sem, entretanto, ocorrer variação entre as estações do ano. Quanto à distribuição da frequência das classes de leite entre as rotas, Ubaí apresentou maior porcentagem de LINA, 15,94%, seguida por Brasília de Minas 15,17%. Na análise de acidez titulável entre os meses e estação do ano os valores oscilaram de 2,13% em julho a 16,01% em outubro e foram superiores na estação chuvosa (10,57%). Percentuais de alíquotas fora dos padrões foram maiores nos meses de outubro com 5,38% e março com 4,88% para densidade, enquanto para a crioscopia em janeiro, com 9,64% e abril com 8,32%. A análise de correlação de Pearson indicou associação negativa de média magnitude entre acidez titulável e crioscopia. No estudo de correspondência das classes de leite com mês, as duas dimensões formadas explicaram 91,62% da inércia acumulada, respectivamente. Setembro apresentou maior associação com as classes de leite LINA e ácido, enquanto abril à classe normal. Conforme análise discriminante todas as variáveis, classes de leite, acidez titulável, densidade e crioscopia, mostraram-se importantes para diferenciar estações seca e chuvosa, assim como, para os grupos de meses formados na análise de agrupamento. As variáveis grupo de mês e de rotas foram significativas sobre a probabilidade de ocorrência de LINA de acordo com a análise de regressão logística. Nesse estudo embora fossem verificadas alterações quanto à estabilidade do leite, foi identificada maior porcentagem de amostras dentro da normalidade. O aumento da frequência de alíquotas positivas ao teste do álcool ocorreu no final do período seco. Enquanto LINA esteve associada ao período de transição da estação seca para a chuvosa.

Palavras-chave: Acidez titulável. Estabilidade proteica. Processamento industrial. Estabelecimentos leiteiros.

## ABSTRACT

Little is known about the influence of unstable non-acidic milk (LINA) on the quality of milk in tropical regions semiarid regions. Researches in different locations and production systems can contribute to explain this change. The objective of this study was to verify physical-chemical parameters of milk quality and occurrence of LINA in northern Minas Gerais State, from the database of dairy industry. Data were collected in Northern Minas Gerais from January to December 2014, corresponding to 10,654 samples, derived units producing milk, distributed in the region. Were evaluated effects of months, routes and seasons of the year on the samples classified as normal, LINA, alkaline and acidic. Furthermore, it was found the implication of these variables on the occurrence of these variables outside of the standards, in relation to the titratable acidity, density and freezing point. Analyzes of Chi-square test of variance, correspondence and simple regression, clustering, discriminant analysis, logistic regression and correlation were performed to obtain the results discussed. The frequency of samples classified as normal was 79.46%; LINA, 12.93%; milk acid, 3.48% and alkaline, 4.14%. Higher occurrence of LINA was observed in September, October and November, without, however, occur variation between the seasons of the year. As for the distribution of the frequency of classes of milk between the routes, Ubaí showed higher percentage of LINA, 15.94%, followed by Brasília de Minas, 15.17%. In the analysis of titratable acidity between the months and seasons of the year the values ranged from 2.13% in July to 16.01% in October and were higher in the rainy season (10.57%). Percentages of samples outside of the standards were higher in the months of October to 5.38% and march with 4.88% for density, while for the freezing point in January, with 9.64% and April with 8.32%. Pearson's correlation analysis indicated negative association of average magnitude between titratable acidity and freezing point. In the study of matching classes of milk with months, the two dimensions formed explained 91.62% of accumulated inertia, respectively. September showed a greater association with the classes of milk LINA and acid, while April to normal class. As discriminant analysis all variables, classes of milk, titratable acidity, density and freezing point, proved to be important to differentiate between dry and rainy seasons, as well as, for the groups of months formed in cluster analysis. The variables group of month and routes were significant on the probability of occurrence of LINA in accordance with logistic regression analysis. In this study, although they were observed changes in the milk stability, a higher proportion of samples within the normal it was identified. The increase in the frequency of positive samples for alcohol test occurred at the end of the dry season, while LINA was associated with the transition period of the dry season to the rainy season.

Keywords: Milk production. Titratable acidity. Protein stability. Dairy industry.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
Quadro 1 – Leitura e interpretação de resultados da prova do alizarol .....	189
Quadro 2 – Diferenças na composição centesimal no leite instável não ácido em relação ao normal .....	22
Quadro 2 – Diferenças na composição centesimal no leite instável não ácido em relação ao normal .....	23
Quadro 3 – Diferenças no conteúdo de minerais no leite instável não ácido em relação ao normal .....	23
<b>CAPÍTULO 2 - PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE E OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NO NORTE DE MINAS GERAIS .....</b>	<b>41</b>
Figura 1. Gráfico de correspondência para classes de leite entre meses, conforme Instrução Normativa IN 62/2011 do MAPA.....	52
Figura 2. Gráfico de correspondência para classes de leite entre rotas, conforme Instrução Normativa IN 62/2011 do MAPA.....	52
Figura 3. Análise de correspondência múltipla quanto ao resultado do teste do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia entre meses, conforme Instrução Normativa IN 62 .....	53
Figura 4. Análise de correspondência múltipla quanto ao resultado do teste do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia em relação à estação do ano, conforme Instrução Normativa IN 62/2011 do MAPA.....	54
Figura 5. Dendograma da análise de agrupamento para meses e rotas quanto às variáveis acidez titulável, densidade e crioscopia, assim como, da frequência de leite LINA entre meses e rotas.....	55
Figura 6. Valores de <i>odds ratio</i> para comparação de grupos de meses e de rotas formados na análise de agrupamento na avaliação de LINA.....	58

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
Tabela 1 – Requisitos físico-químicos para o leite cru refrigerado .....	16
Tabela 2 – Interpretação de resultados de análises do leite quanto à acidez titulável em pH e em graus Dornic .....	19
Tabela 3 – Densidade dos componentes do leite .....	20
<b>CAPÍTULO 2 - PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE E OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NO NORTE DE MINAS GERAIS .....</b>	<b>41</b>
Tabela 1. Distribuição da frequência das classes de leite normal, LINA, alcalina e ácida, assim como, de amostras fora do padrão quanto ao resultado do teste do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia entre os meses, estação do ano e rotas.....	48
Tabela 2. Distribuição de médias de acidez titulável, densidade e crioscopia do leite cru quanto aos meses no Norte de Minas Gerais.....	50
Tabela 3. Distribuição de médias de acidez titulável, densidade e crioscopia do leite cru quanto às diferentes localidades do Norte de Minas Gerais.....	56
Tabela 4. Comparação de médias entre grupos de meses para acidez titulável, densidade e crioscopia do leite .....	52
Tabela 5. Análise de variância entre grupos para acidez titulável, densidade e crioscopia quanto às diferentes localidades do Norte de Minas Gerais.....	56
Tabela 6. Análise discriminante quanto às variáveis acidez titulável, densidade e crioscopia para diferenciação entre grupos em relação às estações do ano.....	57
Tabela 7. Análise discriminante quanto às variáveis acidez titulável, densidade e crioscopia para diferenciação entre grupos de rotas.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\alpha$ -caseína	-	Alfacaseína
$\alpha$ - LA	-	Alfa lactalbumina
$\beta$ -caseína	-	Beta caseína
$\beta$ - LG	-	Beta lactoglobulina
CBT	-	Contagem bacteriana total
CCS	-	Contagem de células somáticas
°D	-	°Dornic
K Da	-	Kilo Dalton
DL	-	Decilitro
ESD	-	Extrato seco desengordurado
EST	-	Extrato seco total
G/cm <sup>3</sup>	-	Gramas por centímetro cúbico
°GL	-	Graus Gay Lussac (°GL=%V)
°H	-	Graus Hovert
IBGE	-	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN-62	-	Instrução Normativa n°62, de 29 de dezembro de 2011
K- caseína	-	Kapa caseína
LINA	-	Leite instável não ácido
MAPA	-	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
NNP	-	Nitrogênio Não Protéico
NUL	-	Nitrogênio uréico no leite
RIISPOA	-	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
UFC/mL	-	Unidades formadoras de colônias por mililitro
UPL	-	Unidade produtora de leite

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivos Específicos .....	14
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
3.1 Cenário da produção leiteira no Brasil .....	15
3.2 Leite e parâmetros de qualidade no Brasil.....	16
3.3 Controle físico-químico do leite .....	17
3.3.1 Prova de estabilidade ao álcool/alizarol.....	17
3.3.1.1 Acidez titulável .....	19
3.3.1.2 Determinação da Densidade.....	20
3.3.1.3 Crioscopia ou índice crioscópico.....	20
3.3.2 Leite instável não ácido.....	21
3.5 Composição e características físico-químicas do leite alteradas pela ocorrência de leite instável não ácido .....	22
3.6 Proteínas do leite .....	23
3.7 Caseínas .....	254
3.7 Fatores predisponentes à ocorrência de leite instável não ácido.....	26
3.7.1 Aporte Nutricional.....	26
3.7.2 Sazonalidade.....	288
3.7.3 Fatores genéticos e inter-raciais .....	299
<b>Referências.....</b>	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO 2 - PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE E OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NO NORTE DE MINAS GERAIS .....</b>	<b>413</b>
INTRODUÇÃO .....	43
MATERIAL E MÉTODOS .....	44
RESULTADOS .....	47
DISCUSSÃO .....	58
CONCLUSÃO .....	61
REFERÊNCIAS.....	62

## CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

Alta qualidade é prioridade para leite e derivados estabelecerem-se no mercado. Desse modo, tem sido motivada a criação de programas para monitorar a obtenção de produtos e garantir segurança alimentar, sendo intensificado o controle em unidades agrícolas e indústrias lácteas (BRASIL, 2011).

No Brasil, entretanto, produtos lácteos nem sempre se apresentam conformidade aos padrões regulatórios (COSTABEL *et al.*, 2009). Referente à produção leiteira no país, ainda são necessárias modificações estruturais, que exigem a especialização dos produtores e laticínios para atender as demandas do mercado (ARAUJO; SILVA, 2014). A falta de estrutura adequada para o manejo dos rebanhos e as condições sanitárias deficientes de produção constituem dificuldades a serem vencidas, especialmente quando comparadas às unidades produtoras mais competitivas do mundo (SILVA *et al.*, 2013).

Esses fatores podem representar as causas da baixa produtividade dos animais e das possíveis variações de qualidade do leite, sobretudo da perda de estabilidade do produto, frequentemente reportada pelos laticínios. Contudo, podem ser observadas amostras de leite instáveis com parâmetros de contagem bacteriana e de células somáticas dentro dos padrões adequados, determinando a anormalidade Leite Instável Não Ácido (LINA) (FISCHER *et al.*, 2012).

LINA apresenta etiologia complexa e causas multifatoriais não totalmente elucidadas. Associa-se esse fenômeno, às situações de restrição alimentar, aos efeitos climáticos e genéticos dos rebanhos (STIPP *et al.*, 2013; STUMPF, 2014; ZANELA *et al.*, 2009).

A ocorrência desse tipo de leite tem gerado prejuízos econômicos aos produtores e à indústria láctea, visto que amostras com reações de precipitação ao teste do álcool podem ser rejeitadas por laticínios, os quais julgam o leite inapto ao processamento em consequência do risco de coagulação durante o tratamento térmico (HOLT *et al.*, 2013).

Em regiões tropicais semiáridas, como no Norte de Minas Gerais, há poucos estudos para o esclarecimento da origem de LINA (FERNANDES *et al.*, 2013). Contudo, o conhecimento da anormalidade em diferentes regiões e sistemas de produção pode colaborar para se explicar essa alteração.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Realizar levantamento de parâmetros de qualidade do leite e ocorrência de leite instável não ácido no Norte de Minas Gerais, por meio de estudo em banco de dados de laticínio.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar a frequência de apresentação de amostras de leite em relação à adequação aos padrões normativos quanto ao resultado do teste do álcool, da acidez titulável, densidade e índice crioscópico;
- Verificar a ocorrência de leite instável não ácido em diferentes localidades do Norte de Minas Gerais;
- Analisar efeito dos meses, das estações do ano e das rotas sobre a ocorrência de leite instável não ácido;
- Verificar a influência dos meses, das estações do ano e das rotas sobre a ocorrência de amostras fora dos padrões normativos, quanto ao resultado do teste do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Cenário da produção leiteira no Brasil

No cenário da produção leiteira mundial, o Brasil configura-se entre os países com maior produção e consumo de leite, ocupando a quinta posição. Esses índices equivalem a, aproximadamente, 34,25 bilhões de litros produzidos e de 12,42 kg do produto consumidos, segundo o *United States Department of Agriculture* (USDA, 2014).

Conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2014), o país tem apresentado aumento gradativo na produção leiteira. De 2003 a 2013, a atividade cresceu quase 54%, resultado superior à média mundial. Em 2014 e 2015, o setor passou por instabilidade, porém se estabeleceu com forte alta no início de 2015, correspondendo a 5,1% da produção total (USDA, 2014).

Nesse panorama, as regiões Sudeste e Sul destacam-se na produção leiteira nacional. No ano de 2012 participaram com 69%, dos 32,3 bilhões de leite produzidos pelo país e em 2013 essa participação foi ainda maior. A região Sudeste contribuiu com 35% desse percentual e a Sul com 34%. Minas Gerais manteve-se na liderança, representando 27% do total produzido, seguido pelo Rio Grande do Sul com 13%, Paraná, 12,6% e Goiás, 11% (IBGE, 2014).

O estado de Minas Gerais permanece à frente no setor em virtude do aumento do número de vacas ordenhadas, do crescimento extensivo da produção e por apresentar tradição na atividade (IBGE, 2015). No período de 2002 a 2014, o volume de leite produzido cresceu 4% ao ano, passando de 6.177.356 mil para 9.309.165 mil litros (IBGE, 2015).

Zoccal (2007) avaliou a cadeia produtiva no Estado entre os anos de 1997 e 2006 e observou crescimento para microrregiões no Norte de Minas Gerais. O autor descreveu variação de 50 e 170%, sendo essas as que registraram maior aumento na produção durante o período.

Segundo o IBGE (2011) a região norte-mineira entre os anos de 2006 e 2010 apresentou incremento de 59,4% na atividade leiteira, totalizando em 2010, 439.812 mil litros de leite produzidos. No mesmo intervalo, essa participação na produção estadual cresceu de 3,78% para 5,24%. Em 2011, a mesorregião somou 311.754 mil litros, os quais representam 3,93% do montante do Estado para o mesmo período, ou seja, de 7.931.115 mil litros (IBGE, 2013). Entretanto, o Norte de Minas Gerais, juntamente com os Vales do Mucuri, Jequitinhonha e do Rio Doce, ainda são consideradas regiões com menor aptidão e tradição para a atividade leiteira (NASCIF, 2008). Nessas, assim como em outras localidades do país, identifica-se heterogeneidade dos sistemas produtivos, existindo muitos aspectos a serem melhorados (ARAUJO; SILVA, 2014). Isso inclui a sanidade do rebanho, a qualidade do leite produzido, produtividade por animal e produção de alimentos para o rebanho, principalmente, no período seco (SILVA *et al.*, 2013).

### 3.2 Leite e parâmetros de qualidade no Brasil

Leite é definido, sem outra especificação, como o produto *in natura*, fresco e integral, proveniente da ordenha completa e ininterrupta, realizada em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011). Entre os alimentos naturais mais completos, fornece nutrientes e proteção imunológica ao organismo (TRONCO, 2013). Contém em torno de 87,6% de água; 12,4% de sólidos totais; 4,52% de lactose e; 3,61% de gordura e 3,28% de proteína, os quais resultam em elevado valor biológico (VIOTTO *et al.*, 2006). Permite, além disso, o processamento industrial para a produção de diversos produtos lácteos (SANTOS; FONSECA, 2007).

Apesar dos benefícios, o alimento caracteriza-se por variabilidade, possibilidade de alterações e complexidade. Assim, pode ser influenciado por condições ambientais e de contaminação microbiológica, ocorrentes em várias etapas da cadeia produtiva (ROSA; QUEIROZ, 2007), tais fatores são considerados as principais causas para a perda de estabilidade e qualidade do produto (GONZÁLEZ-SEDANO *et al.*, 2010). Dessa maneira, o leite precisa ser controlado por normas de inspeção industrial e sanitária, devendo ser observados os requisitos mínimos necessários estabelecidos pela Instrução Normativa (IN-62), quanto aos parâmetros físico-químicos (TABELA 1), microbiológicos e sanitários (BRASIL, 2011).

Tabela 1 – Requisitos físico-químicos para o leite cru refrigerado

Item de composição	Limites
Gordura (g/100g)	Mínimo de 3,0
Proteína total (g/100g)	Mínimo de 2,9
Extrato seco desengordurado (g/100g)	Mínimo de 8,4
Índice crioscópico máximo	-0,530° H (-0,512°C)
Densidade relativa a 15°C (g/ml)	1,028 a 1,034
Acidez titulável em ácido láctico (g/100ml)	0,14 a 0,18
Estabilidade ao Alizarol 72% (v/v)	Estável

Fonte: BRASIL, 2011.

A legislação, por meio da Instrução Normativa nº 51 do Ministério da Agricultura pecuária e Abastecimento (MAPA), constituiu uma das principais ações do Programa Nacional de Qualidade do Leite (BRASIL, 2002). A partir dessa Instrução, foram estabelecidos parâmetros de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, B, e C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado, e para a coleta e transporte dessa matéria-prima.

No que diz respeito à contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) os valores máximos permitidos foram inicialmente de 1.000.000 mL<sup>-1</sup>, vigentes entre julho de 2005 e julho de 2008 para as regiões Sul, Sudeste e Centro-oeste. Posteriormente o limite máximo foi reduzido para 750.000 mL<sup>-1</sup> que seria vigente até julho de 2011 e, a partir de então, seria de 400.000 mL<sup>-1</sup> para essas mesmas regiões (BRASIL, 2002). Contudo, em função

da dificuldade de adequação dos produtores aos padrões de qualidade para os parâmetros de CBT e CCS, a Instrução Normativa nº 62 foi publicada, sendo exigidos novos valores e prazos para esses constituintes. Nessa legislação, foi preconizado decréscimo na contagem de CBT e CCS desde 01/07/2014 e esperadas reduções até 01/07/2016, de valores de 300.000 para 100.000 UFC/mL e de 500.000 para 400.000 células somáticas/mL, respectivamente (BRASIL, 2011). Demais especificações, assim como para os teores de sólidos na composição centesimal, não tiveram os valores alterados na IN-62.

Entre esses requisitos, é também exigido o controle de temperatura e manutenção das condições higiênico-sanitárias da matéria-prima. O leite deve ser refrigerado no tempo máximo de três horas após o término da ordenha. Essa refrigeração pode ocorrer em tanques por expansão direta à 4° C e/ou, por meio, da imersão de latões em tanques com água gelada à 7° C (BRASIL, 2011). Determina-se tempo máximo de 48 horas de conservação no estabelecimento rural e transporte da matéria-prima em carro-tanque isotérmico da unidade produtora até a indústria, para ser processado (BRASIL, 2011).

Das condições de sanidade, é indispensável que o alimento conserve-se seguro e íntegro, ou seja, livre da adição de substâncias e deterioração física, química ou microbiológica e isento de patógenos, para o beneficiamento e para comercialização (DURR, 2004; TRONCO, 2013).

### **3.3 Controle físico-químico do leite**

Nos laticínios, as análises físico-químicas do leite são ferramentas de controle de qualidade, tendo como objetivo estabelecer o monitoramento dos processos, a padronização dos produtos e adequação às normas da legislação (CASTANHEIRA, 2010). As análises principais variam conforme a destinação do produto na indústria, podendo consistir da determinação de estabilidade ao alizarol, acidez titulável, densidade e crioscopia (TRONCO, 2008).

#### **3.3.1 Prova de estabilidade ao álcool/alizarol**

Para a avaliação da qualidade da matéria-prima o teste do álcool é a primeira análise a que o leite é submetido nas unidades produtoras (FISCHER *et al.*, 2012). Esse teste permite avaliar a estabilidade da matéria-prima frente ao calor homogeneizando-se partes iguais de leite e álcool, de modo a estimar a capacidade do alimento em suportar altas temperaturas, sem coagular ou geleificar durante o processamento térmico (SINGH, 2004). Nessas condições, torna possível determinar o aceite ou a rejeição do leite para coleta e transporte, antes do recebimento pelo transportador.

Na rotina das plataformas de recepção das indústrias, é mais comumente utilizada a prova do alizarol, por permitir combinar o teste do álcool, com a determinação colorimétrica do pH, através do indicador de cor, alizarina (ABREU, 2008). A análise possibilita, observar de

forma simultânea, a floculação da caseína e a alteração da cor em decorrência da mudança de pH (TRONCO, 2013).

A indústria, com esse intuito, utiliza a alizarina como medida aproximada da acidez do leite por colorimetria, e a combinação do álcool por medir a termoestabilidade do leite ao calor (ZANELA *et al.*, 2015). Encontram-se exemplificadas no Quadro 1, a leitura e a interpretação de resultados da prova do alizarol.

Quadro 1 – Leitura e interpretação de resultados da prova do alizarol

Reação	Acidez (°D)	pH	Qualidade
Coloração tijolo ou róseo salmão, sem coagulação	Entre 14 e 18	6,8	Leite normal estabilidade à temperatura elevada.
Coloração tijolo ou róseo-salmão, coagulação fina	Entre 19 a 21	6,4	Leite pouco ácido, sem resistência térmica.
Coloração amarela, com coagulação	Acima de 21	Abaixo de 6,0	Leite ácido fermentado.
Coloração violeta, sem coagulação	Abaixo de 14	Acima de 6,8	Leite alcalinizado ou fraudado com água.

Fonte: Adaptado de CASTRO, 2005; TRONCO, 2008.

Essa avaliação é obrigatória por exigência da legislação brasileira, a qual determina concentração etílica mínima de 72% v/v (BRASIL, 2011). Graduações alcoólicas de 76, 78 e até 80%, no entanto, são praticadas por diversas indústrias, na intenção de se obter matéria-prima de melhor qualidade e, também, no intuito de se conseguir leite estável a temperaturas mais elevadas para o beneficiamento (FISCHER *et al.*, 2012). Há interpretações apontando que, quanto maior for a concentração de álcool, melhor será a termoestabilidade do produto e as condições de conservação do leite (TRONCO, 2013). Contudo, estudos realizados demonstram não existir correlação entre o aumento da graduação alcoólica e a maior resistência térmica, não justificando a utilização da prova em concentração acima de 75% de álcool (SILVA *et al.*, 2012; FISCHER *et al.*, 2012). Recomenda-se, dessa maneira, evitar concentrações superiores, por serem, algumas vezes, indicativas de falsos positivos, pois, o aumento progressivo pode resultar no aumento de amostras positivas (MOLINA *et al.*, 2001).

### 3.3.1.1 Acidez titulável

A determinação da acidez por titulometria fundamenta-se na neutralização das funções ácidas do leite até o ponto de equivalência (TRONCO, 2013). Tal análise, é definida, como a quantidade de álcali adicionada ao leite para modificar o pH de 6,6 para 8,4-8,6 a 25°C (TRONCO, 2013), sendo expressa em graus Dornic (°D) ou em porcentagem (%) de ácido láctico consumida. Cada 0,1 mL de solução de NaOH N/9 gasto, equivale a 1° Dornic ou 0,1 g de ácido láctico/L (BRASIL, 2011).

Nesse teste, a substância alcalina, como o hidróxido de sódio (NaOH N/9 ou 0,11 N), é utilizada para neutralizar o ácido do leite, enquanto a substância indicadora, fenolftaleína, mostra a quantidade de álcali necessária à neutralização da acidez. Esse indicador permanece incolor quando misturado à substância ácida, mas adquire cor rósea em meio alcalino. Portanto, o álcali é adicionado ao produto até adquirir coloração rosada (EMBRAPA, 2007).

Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), o leite deve apresentar pH entre 6,6 a 6,8, correspondente à acidez de 14 a 18° D. A legislação considera como ácido o leite com acidez acima de 18° D; alcalino, inferior a 14° D; e muito ácido, superior a 20° D (BRASIL, 2011). Dessa forma, são demonstradas as interpretações de resultados, quanto à acidez titulável, em pH e em graus Dornic, conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Interpretação de resultados de análises do leite quanto à acidez titulável em pH e em graus Dornic

pH	Acidez Dornic (°D)	Interpretações
6,6 a 6,8	14 a 18	Leite normal (fresco)
6,9	Inferior a 14	Leite alcalino: leite de vaca com mastite, em final de lactação, leite de retenção ou fraude com água.
6,5 a 6,6	19 a 20	Leite ligeiramente ácido: início de lactação, com colostro e/ou em processo de fermentação.
5,2	55 a 60	Leite que começa a flocular à temperatura ambiente.

Fonte: Adaptado de RODRIGUES *et al.*, 1995.

A acidez titulável, nesse contexto, pode ser influenciada pelo estágio de lactação, mastite e composição do leite fresco (FISCHER *et al.*, 2012). Essas variações podem ser resultantes das más condições higiênico-sanitárias e da forma de conservação inadequada. Situações nas quais, a temperatura e a higiene empregadas influenciam diretamente nas mudanças de composição (TRONCO, 2013). Assim, quando a acidez titulável não está conforme

aos padrões estabelecidos, considera-se leite anormal, em início de fermentação e impróprio para consumo (BRASIL, 2011).

### 3.3.1.2 Determinação da Densidade

A densidade do leite é a relação existente entre peso e volume, normalmente medida a 15°C ou corrigida para essa temperatura (VENTURINI *et al.*, 2007). Na indústria, é geralmente mensurada, por meio de termolactodensímetro de Quevene®, que apresenta graduações de 15 a 45° C e densidade de 1,015 a 1,045 g/cm<sup>3</sup> (PENNA *et al.*, 2004).

Esse parâmetro serve para controlar, até certos limites, fraudes no leite, referentes à desnataçãoprévia ou adição de água. Conforme a legislação a densidade pode variar de 1,027 a 1,034 g/cm<sup>3</sup>, vindo a diminuir à proporção do aumento da quantidade de gordura, que ocorre quando se eleva as concentrações de proteína, lactose e sais minerais (TRONCO, 2013). A gordura, desse modo, apresenta densidade inferior a da água do leite, enquanto os sólidos não gordurosos, superior (CASTRO, 2005). Assim, estão representados na Tabela 3, os componentes e a densidade do leite.

Tabela 3 – Densidade dos componentes do leite

Constituintes	g/cm <sup>3</sup> a 15,5°C
Água	1,000
Gordura	0,930
Proteína	1,346
Lactose	1,666
Minerais	5,500

Fonte: CASTRO, 2005.

Resultados de densidade abaixo do mínimo podem indicar adição de água no leite e/ou, eventualmente, problemas nutricionais ou de saúde do animal. Acima do normal, fornece indícios de desnate ou, ainda, acréscimo de qualquer outro produto corretivo. Indicações de adulteração do volume de água são evidenciadas somente quando esta é adicionada em quantidades de 5 a 10% superiores ao leite (TRONCO, 2013).

### 3.3.1.3 Crioscopia ou índice crioscópico

A crioscopia é a medida do ponto de congelamento do leite ou da depressão do ponto de congelamento em relação ao da água. Sucintamente, é a temperatura na qual o leite passa do estado líquido para o sólido (TRONCO, 2010). Na análise de qualidade do leite, essa determinação serve para detectar fraudes por adição de água. Para o leite bovino, o ponto de congelamento pode variar no máximo -0,512°C e, no mínimo, -0,550°C (EMBRAPA, 2007). A

legislação brasileira estabelece, como índice crioscópico máximo, a temperatura de  $-0,512^{\circ}\text{C}$  ou  $-0,530^{\circ}\text{H}$  (BRASIL, 2011).

Na composição do leite, os constituintes responsáveis por reduzir o ponto de congelamento são lactose, minerais, proteínas solúveis e os gases dissolvidos. Quando há adição de água ao leite, verifica-se alteração do ponto de congelamento fazendo com que este se aproxime de zero. Isso acontece porque concentrações dos componentes em solução verdadeira na água do leite são diluídas. Portanto, quanto maior a temperatura, maiores os indícios de fraude. Essa prova pode variar em função da estação do ano, alimentação, raça, estado de saúde e idade dos animais, entre outros. Nas indústrias lácteas é normalmente mensurada por meio de crioscópicos eletrônicos digitais (TRONCO, 2013).

### **3.3.2 Leite instável não ácido**

A ocorrência de reação positiva do leite ao teste do álcool, sem ser associada ao aumento da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana, pode indicar LINA (FISCHER *et al.*, 2012). Esse fenômeno possui como principal alteração, a perda de estabilidade protéica, resultante de modificações das propriedades físico-químicas da matéria-prima. Tais alterações incluem a diminuição dos sólidos totais, da estabilidade térmica e da capacidade tamponante (ZANELA *et al.*, 2009).

A origem dessa anormalidade é multifatorial, estando relacionada, dentre outros fatores, ao desequilíbrio nutricional associado à qualidade inferior das forragens e ao aporte desbalanceado de energia e proteína da dieta (FRUSCALSO *et al.*, 2013; GABBI, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2011; WERNCKE, 2012). Atribui-se ainda, o fenômeno, aos efeitos das variações sazonais, com maiores implicações em época de escassez de alimentos e de temperaturas elevadas (BATTAGLINI *et al.*, 2013; BOTARO *et al.*, 2009; FISCHER *et al.*, 2012; NAKAMURA *et al.*, 2012). Há também indícios de influência genética, nos quais o aumento da termoestabilidade do leite é relacionado ao polimorfismo das variantes genéticas das proteínas lácteas, tais como, betalactoglobulina e K-caseína (BOTARO *et al.*, 2007, 2009; STIPP *et al.*, 2013; STUMPF, 2014).

A possível ocorrência de LINA tem sido sério desafio para toda a cadeia produtiva, pois causa prejuízos econômicos. Os prejuízos comprometem as indústrias, pois a matéria-prima é considerada inapta ao processamento, por não ser resistente ao tratamento térmico. Produtores também sofrem as consequências, em decorrência da penalidade no valor pago pelo produto e/ou em virtude da rejeição do leite quando este precipita no teste do álcool. Têm-se ainda perdas para os consumidores, pois, o produto tende a formar coágulos durante a estocagem (FISHER *et al.*, 2012; HOLT *et al.*, 2013; SCHMIDT, 2014).

Pesquisas, nesse contexto, foram realizadas para avaliar o aproveitamento industrial de leite LINA. Em ensaios preliminares da produção de queijo minas padrão, foi observado menor rendimento do produto, além de aumento no tempo de coagulação e redução da porcentagem de gordura (BARBOSA *et al.*, 2006). Diferentemente, Costabel *et al.* (2009) e Oliveira *et al.*

(2011) não verificaram mudanças significativas no rendimento de queijos processados com matéria-prima instável ao teste do álcool à 72 e 80% (v/v). Contudo, a retenção de coágulo foi maior para os queijos provenientes de lotes instáveis a 72% (v/v). No entanto, as amostras com floculação a 80% (v/v) demonstraram aumento na porcentagem de retenção de gordura e sólidos totais. Em outras condições Abreu (2015), ao avaliar diversas concentrações de álcool classificadas como baixa, ou seja, inferior a 72%, média, entre 72 e 78% e de alta estabilidade, superior ou igual a 78% (v/v), não observou variações na composição de queijos tipo prato e de influência do aumento da graduação alcoólica.

Esses outros resultados demonstram divergências quanto às possíveis reduções de rendimento industrial e da concentração de álcool, para efeito de estabilidade. Entretanto, é possível enfatizar que amostras de leite LINA, em testes com concentração etílica igual ou superior a 72% v/v, apresentaram aptidão à coagulação. Além disso, se o leite for estável ao teste da fervura, pode ser usado como matéria-prima, sem inconvenientes à produção de derivados lácteos (COSTABEL *et al.*, 2010; FISCHER *et al.*, 2012; ZANELA *et al.*, 2015).

### 3.5 Composição e características físico-químicas do leite alteradas pela ocorrência de leite instável não ácido

Em estudos comparativos entre leite normal e leite instável foram evidenciadas variações na composição da matéria-prima. Tais diferenças podem ser identificadas em diversos trabalhos, como os apresentados nos Quadros 2 e 3.

Quadro 2– Diferenças na composição centesimal no leite instável não ácido em relação ao normal

(Continua)

Autor/ano	Componentes (%)					
	Lactose	Gordura	Proteína	Caseína	EST	ESD
Fischer (2006)	D	D	D	-	D	D
Zanela <i>et al.</i> (2006)	D	SE	D	-	-	-
Fruscalso (2007)	SE	SE	SE	-	SE	SE
Abreu (2008)	SE	SE	SE	-	SE	SE
Barbosa (2008)	SE	SE	SE	-	-	-
Lopes (2008)	D	A	D	-	-	-
Viero (2008)	D	SE	D	-	SE	-
Zanela (2009)	D	SE	D	-	D	D

Quadro 2 – Diferenças na composição centesimal no leite instável não ácido em relação ao normal

(Conclusão)

Machado (2010)	SE	SE	SE	A	SE	-
Lazzarotto <i>et al.</i> (2012)	D	A	A	A	A	A
Ciprandi <i>et al.</i> (2014)	D	A	A	-	-	A
Voges (2015)	D	A	A	A	D	-
Fortuna (2015)	D	A	D	-	-	-

Legenda:

EST- Extrato Seco Total; ESD- Extrato Seco Desengordurado;  
A- aumenta; D-diminui; SE- sem efeito; (-) não avaliado.

Fonte: Adaptado de LAZZAROTO *et al.*,2012; ZANELA*et al.*,2015.

Quadro 3 – Diferenças no conteúdo de minerais no leite instável não ácido em relação ao normal

Autor/ano	Componentes (%)							
	Sódio	Cloro	Potássio	Fósforo	Magnésio	Citrato	Cálcio iônico	Cálcio total
Chavez <i>et al.</i> (2004)	A	A	A	SE	SE	SE	SE	SE
Fruscalso (2007)	SE	-	SE	SE	SE	-	-	SE
Taverna (2009)	A	A	A	-	-	-	-	-
Machado (2010)	SE	-	SE	SE	SE	SE	-	SE
Fagnani (2014)	SE	SE	SE	D	SE	-	-	D

Legenda: A- aumenta; D- diminui; SE- sem efeito; (-) não avaliado

Fonte: Adaptado de ZANELA*et al.*,2015.

### 3.6 Proteínas do leite

As proteínas do leite apresentam-se como veículos naturais, que fornecem macronutrientes essenciais, dentre os quais, cálcio e fósforo; além de aminoácidos e componentes do sistema imune para o recém-nascido (LIVNEY, 2010). Essas, com exceção da soroalbumina e imunoglobinas, são sintetizadas por células epiteliais na glândula mamária, a partir de aminoácidos presentes no sangue (CHASE; OVERTON, 2011).

No leite bovino, a fração nitrogenada é constituída por soroproteínas, compostos nitrogenados não protéicos caseínas (PINTO *et al.*, 2013). As soroproteínas representam aproximadamente 20% das proteínas totais, sendo formadas por moléculas globulares, tais como,  $\alpha$ -lactalbumina ( $\alpha$ -LA) e  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG) (PHADUNGATH, 2005).

A  $\alpha$ -lactalbumina, em termos quantitativos é a segunda proteína do soro, correspondendo, aproximadamente, de 15% a 25% do leite bovino, com peso molecular de 14,2k Da (SHANNON *et al.*, 2003). Caracteriza-se por ser de fácil e rápida digestão e por possuir capacidade ligante a minerais, como cálcio e zinco; apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas, incluindo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, além disso, participa do controle da biossíntese de lactose no tecido mamário (LÖNNERDAL, 2003).

A  $\beta$ -lactoglobulina representa, em média, 50% das proteínas do soro, sendo encontrada no leite de espécies que transportam altos níveis de imunoglobulinas durante a formação de colostro (SAWYER; KONTOPIDIS, 2000). Possui função biológica desconhecida, mas está associada com o metabolismo do fosfato na glândula mamária e no transporte da vitamina A e de outras moléculas hidrofóbicas (KONTOPIDIS; HOLT; SAWYER, 2004). Alterações nessa proteína sugerem maiores implicações para a indústria láctea, pois é considerada responsável por induzir a instabilidade do leite (KONTOPIDIS *et al.*, 2004), isso por ser termossensível e apresentar variantes genéticas que oferecem reatividade com a  $\kappa$ -caseína (IAMETTI *et al.*, 1996, SINGH, 2004). Durante o tratamento térmico, as soroproteínas são desnaturadas, tendo como consequência reação com a  $\kappa$ -caseína na micela (MARTINS, 2014); interação essa, que pode ocasionar o início do processo de agregação, obstrução e à consequente perda de eficiência dos trocadores de calor (KONTOPIDIS *et al.*, 2004). Contudo, as alterações dependem, entre outras condições, das concentrações de lactose, cloreto de sódio e de cálcio livre na matéria-prima (DE KRUIF; HOLT, 2003).

O catabolismo de proteínas e ácidos nucleicos resulta na formação dos compostos nitrogenados não-protéicos, os quais representam de 5 a 6% do nitrogênio total do leite (DEPETERS *et al.*, 1993). Muitos fatores comprometem a distribuição do nitrogênio e das frações nitrogenadas do leite, tais como, clima, nutrição e estado de saúde, estágio de lactação, parição, raça e proteólise bacteriana (DEPETERS; CANT, 1992). O aumento das concentrações de proteína na dieta, acima dos requerimentos animais, eleva os teores de NNP no leite; entretanto, o fornecimento de níveis maiores aos recomendados dessa na alimentação diminui a produção de leite mais que o teor em proteína (BURCHARD; BLOCK, 1998). Nessa situação, mudanças na composição, especialmente aquelas resultantes da suplementação de gordura, são acompanhadas por outras alterações, incluindo a diminuição da concentração protéica, aumento dos teores de uréia, de citrato e cálcio solúvel. Essas variações, além disso, podem alterar o rendimento na fabricação de queijos e a estabilidade térmica do leite (PALMQUIST *et al.*, 1993).

### 3.7 Caseínas

As caseínas são as principais proteínas do leite, sintetizadas nas células epiteliais da glândula mamária e secretadas na forma de micelas, correspondendo em média 80% da proteína total (BONIZZI; BUFONI; FELIGINI, 2009). As quatro principais caseínas do leite bovino são  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  e  $\kappa$  e representam, respectivamente, 37, 10, 35 e 15 % do total de caseínas. Essas se mantêm por subunidades esféricas, unidas por interações hidrofóbicas e pontes salinas, o que torna a mobilidade restrita na maior parte da estrutura das moléculas (TRONCO, 2010). Mediante tais condições, há exposição considerável dos resíduos hidrofóbicos, os quais contribuem para a forte associação entre as caseínas, tornando-as insolúveis em água (GOFF, 2009).

O arranjo micelar também confere à micela estabilidade contra processos determinantes de agregação, como por exemplo, calor, etanol e acidificação (SMIDDY; KELLY; HUPPERTZ, 2006). Não obstante, resultados de numerosas mudanças físicas e químicas, podem provocar instabilidade da organização estrutural da caseína (FISHER *et al.*, 2012). Excesso de íons cálcio, alteração do pH e exposição a altas temperaturas, superiores a 120°C, podem contribuir para a desestabilização micelar (O'CONNELL *et al.*, 2006; SINGH, 2004).

O cálcio, de certo modo, desempenha papel importante na estabilidade da caseína, visto que, as cargas das micelas são controladas pela quantidade do cálcio ligado e de cálcio iônico no sistema. Entretanto, somente 10% desse mineral corresponde à forma ionizada e por ser cátion divalente tende a neutralizar a carga negativa da superfície da micela de caseína (LEWIS, 2011). Dessa forma, quanto maior a quantidade de cálcio total, maior será a quantidade de cálcio ligado. A redução das cargas negativas das micelas tende a diminuir a barreira energética para a coagulação. Diferentemente, quando há decréscimo de cálcio, é observado aumento das cargas negativas das micelas e repulsão entre as mesmas, dificultando a coagulação. Portanto, o equilíbrio entre esses processos é necessário para inibir a instabilidade proteica (HORNE; PARKED, 1981; RIBEIRO *et al.*, 2010).

A precipitação do leite por alteração do pH ocorre em consequência da fermentação da lactose e produção de ácido láctico, e é provocada por microrganismos, como as bactérias psicrófilas (BATTAGLINI *et al.*, 2013). Essas causam a diminuição da força de ligação entre as micelas, contribuindo para a coagulação do leite ao teste do álcool e positividade na acidez titulável (OLIVEIRA; TIMM, 2007).

A desestabilização das caseínas em razão das altas temperaturas é atribuída ao aumento da quantidade de fosfato de cálcio associado às micelas. A adição desse componente ao leite eleva o tempo de coagulação térmica, de modo que, enquanto reduz o fosfato solúvel, altera o pH para valores alcalinos (SINGH, 2004; FOX; KELLY *et al.*, 2006). Dessa maneira, induzindo a dissociação da  $\kappa$ -caseína, provoca a perda de estabilidade (O'CONNELL *et al.*, 2006).

O valor do pH depende da capacidade tamponante do leite (PINTO *et al.*, 2013). Logo, a máxima estabilidade térmica ocorre em pH próximo de 6,7 em consequência da agregação das soroproteínas na superfície micelar. Quando o pH ultrapassa 6,9, há dissociação das soroproteínas e também da  $\kappa$ -caseína. O pH abaixo de 6,5 diminui a força iônica necessária para a manutenção da estrutura micelar, resultando no deslocamento do cálcio da fase coloidal para a solúvel, com aumento do cálcio iônico e redução da termoestabilidade protéica (SINGH, 2004).

Diversos estudos têm demonstrado que o desajuste na organização micelar interfere na composição do leite, tendo como consequência LINA. Contudo, resultados das variações caseínicas são distintos, necessitando de maiores estudos (BRODKORB, 2008; FOX; KELLY *et al.*, 2006; SINGH, 2004).

Reche (2013) ao avaliar o efeito da contagem de bactérias psicotróficas em função do tempo de armazenamento do leite constatou alterações nas frações  $\kappa$  e  $\beta$  caseínicas da matéria-prima, porém sem verificar efeito sobre a estabilidade ao teste do álcool. Em contrapartida, Fernandes *et al.* (2012), verificaram correlação positiva entre a contagem de bactérias psicotróficas no leite pasteurizado e a instabilidade da fração  $\kappa$ -caseína no leite UHT aos 120 dias de armazenamento. Assim, a alteração dessa fração ao final do período de validade do produto poderia ser atribuída à presença das bactérias ou das enzimas produzidas por essas. De outro modo, Barbosa *et al.* (2012), ao estudar a restrição alimentar em vacas com lactação avançada, observaram menor concentração de  $\kappa$ -caseína e maiores teores de  $\beta$ -caseína e de proteínas totais em amostras de leite instáveis ao teste do álcool.

Nesse sentido, embora ocorram modificações das características físico-químicas do leite, existe consenso de quanto a estrutura das micelas de caseína é estabilizada por interações hidrofóbicas e iônicas (HOLT *et al.*, 2004). Contudo, os fatores interferentes nas condições de instabilidade do leite precisam ser mais estudados (RECHE, 2013).

### **3.7 Fatores predisponentes à ocorrência de leite instável não ácido**

Diversos fatores foram relacionados ao aumento da frequência de LINA, sendo estes de origem nutricional, como a quantidade e a qualidade da dieta (FISCHER *et al.*, 2012, FRUSCALSO *et al.*, 2013; GABBI, 2013), ambiental, sazonal (BATAGLINI *et al.*, 2013, FERNANDES *et al.*, 2013, NAKAMURA *et al.*, 2012) e genéticos, espécie e raça do animal (BOTARO *et al.*, 2009; STIPP *et al.*, 2013; STUMPF, 2014).

#### **3.7.1 Aporte Nutricional**

Várias pesquisas comprovaram a importância do manejo nutricional na prevenção de LINA. Em muitos trabalhos, a instabilidade induzida por meio da restrição alimentar foi revertida na maioria dos animais estudados. Isso ocorreu em função do ajuste da dieta, elaborada conforme as exigências do rebanho, podendo associar a ocorrência de LINA à

nutrição animal desequilibrada (FERRARETO *et al.*, 2014; FRUSCALSO *et al.*, 2013; SCHMIDT, 2014).

A redução da quantidade ou qualidade inferior dos alimentos favorece condições de subnutrição ou desequilíbrio nutricional, os quais por certo tempo, reduzem a produção leiteira, os percentuais de proteína e a estabilidade do leite ao teste do álcool (GUINARD-FLAMENT *et al.*, 2007; BATAGLINI *et al.*, 2013; ZANELA *et al.*, 2009).

Barbosa *et al.* (2012) ao induzir a ocorrência de LINA mediante restrição alimentar, verificaram que a deficiência de nutrientes age como fator redutor de estabilidade do leite, pois foram constatadas nas amostras instáveis maiores concentrações de  $\beta$ -caseína e de proteína total, assim como, tendência de redução do teor de  $\kappa$ -caseína do leite. De modo semelhante, Stumpf *et al.* (2013) observaram que a deficiência de nutrientes propiciou o aumento da permeabilidade das junções das células mamárias, resultando em menor estabilidade do leite ao etanol. Dessa forma, para os autores, a redução de nutrientes pode induzir a instabilidade protéica, possivelmente por meio de alterações nas subunidades de caseína e por mudanças na concentração de cátions bivalentes, como do cálcio. Isso é provável de acontecerem virtude do espaço intercelular ser aumentado em resposta à restrição alimentar (BARBOSA *et al.*, 2012; STUMPF *et al.*, 2013). Além disso, esse evento ocasiona várias complicações metabólicas nos animais, como alterações dos hormônios ligados à gliconeogênese e a metabolização de gordura. Ferraretto *et al.* (2014) substituíram 50% da ração total por palha de arroz, administrado à vacas em lactação e constataram diminuição nos níveis de glicose e insulina circulantes, bem como, severa redução na produção de leite, de 40,8L ao dia para 24,4L diários.

Para Guinard-Flament *et al.* (2006) e Dessauge *et al.* (2011), os principais efeitos da restrição alimentar estão relacionados ao desajuste da regulação da glândula mamária. Conforme os autores, a síntese de lactose e o fluxo arterial de glicose diminuem consideravelmente em virtude das mudanças metabólicas e secretoras; todavia, essas alterações dependem da intensidade e duração desse fator (GABBI, 2013).

De outro modo, o ajuste entre energia e proteína da dieta e a melhoria na qualidade e quantidade das pastagens podem reverter as condições de estresse nutricional (BATAGLINI *et al.*, 2013). Isso foi demonstrado por Schmidt (2014) ao avaliar o período de indução da instabilidade e posterior recuperação desta. Observou-se o aumento dos níveis de proteína e energia, como favoráveis para o restabelecimento do consumo de matéria seca e de proteína bruta pelos animais, proporcionando a rápida recuperação da estabilidade, com reversão da instabilidade, retorno à produção de leite e teor de lactose normais. Logo, para se evitar quadros de subnutrição e conseqüentemente LINA, é essencial a adequada disponibilidade de forragem e balanceamento da dieta, com o atendimento constante das exigências do rebanho (FRUSCALSO, 2007).

### 3.7.2 Sazonalidade

Efeitos sazonais na frequência de LINA podem ser associados à temperatura ambiente e à disponibilidade de alimentos, os quais variam de acordo a região do país (FISCHER *et al.*, 2012; NAKAMURA; SILVA 2012; STUMPF *et al.*, 2014). Altas temperaturas e umidade relativa do ar elevada normalmente reduzem a ingestão de alimentos pelos animais, podendo influenciar a diminuição da produção e a estabilidade do leite (DAHL, 2010). Os períodos de menor disponibilidade de pastos e forragens de baixa qualidade (BARCHIESI-FERRARI *et al.*, 2007; BATTAGLINI *et al.*, 2013) também podem favorecer essa ocorrência. Esse problema geralmente ocorre na rebrota das pastagens, condição na qual, há maiores chances de acontecer restrição alimentar (BATTAGLINI *et al.*, 2013; GABBI, 2013).

Isso foi relatado por Marques *et al.* (2010) e Zanela *et al.* (2009), que associaram o aumento da frequência da instabilidade ao álcool à época de escassez de forragens. Essa situação foi atribuída por esses autores, ao final de ciclo das pastagens de verão, ao compartilhamento de áreas para a produção de cereais e à deficiência de chuvas para a produção de volumoso, na região Sul do Brasil.

LIMA (2005) também verificou efeito significativo da época de coleta sobre a estabilidade do leite, sendo constatada no período seco menor estabilidade (78,68°GL), em comparação com a estação chuvosa (80,93°GL). Além disso, animais da raça Holandesa e Girolanda, apresentaram maiores teores de proteína no período seco, 3,16 e 3,15%, se comparadas à estação chuvosa, com 3,0 e 3,01%, respectivamente.

Abreu *et al.* (2011) observaram relação do estresse térmico com a instabilidade do leite. Ao estudar animais sob privação de sombra durante estação quente, os autores perceberam diminuição da termoestabilidade do leite ao teste do álcool, de 76,41 para 70,83% e redução do tempo de coagulação, de 185,3 para 106,7 segundos após o quinto dia consecutivo da ausência de sombra. Stumpf (2014) também constatou que animais puros Holandês foram menos resistentes às temperaturas elevadas quando comparados aos cruzados. Girolando G $\frac{1}{2}$  e G $\frac{3}{4}$  apresentaram ainda menor estabilidade do leite, 72,55% em comparação a raça Girolanda G $\frac{1}{2}$  82,45% e G $\frac{3}{4}$ , 85,78%. Conforme Fischer (2014) animais *Bos taurus* que provêm de clima temperado são menos tolerantes ao estresse térmico se comparados aos zebuínos (*Bos indicus*), pelo fato de estes terem evoluído em zonas tropicais. Assim, podem ser observados problemas na adaptação de raças leiteiras de origem européia, em regiões tropicais, como desordens fisiológicas e comportamentais, além de diminuição da produção e da estabilidade do leite (SCHIMIDT, 2014). Depeters e Ferguson (1992) verificaram que altas temperaturas ambientais reduziram o conteúdo de proteína total, bem como, promoveram diminuição da consistência de coágulo do leite nos rebanhos submetidos à condição térmica elevada. A partir desses trabalhos citados anteriormente e de outros estudos que caracterizam a produção regional, as indústrias e os produtores podem estimar o efeito de fatores sazonais na qualidade do leite. Isso torna possível o uso de medidas preventivas para evitar os riscos e os prejuízos na produção de leite (SOUZA, 2011).

### 3.7.3 Fatores genéticos e inter-raciais

É possível que a ocorrência de LINA esteja relacionada a fatores genéticos associados ao polimorfismo das variantes genéticas das proteínas (LIMA 2005; MACKLE *et al.*, 1999; PONCE; HERNANDEZ, 2001), mais especificamente da betalactoglobulina ( $\beta$ -Lg) e da caseína ( $\kappa$ -Cn). Essas estão relacionadas à produção, qualidade e características de processamento do leite (DEL LAMA; ZAGO, 1996; FARIA *et al.*, 2000; STIPP *et al.*, 2013).

Imafidon *et al.* (1991) estudando diferentes proporções e fenótipos distintos das proteínas lácteas sobre a estabilidade térmica da  $\beta$ -Lg e da  $\kappa$ -Cn, verificaram que o genótipo BB da  $\beta$ -Lg produziu composição protéica mais termoestável que outros genes, inclusive em diferentes concentrações de  $\beta$ -Lg: $\kappa$ -Cn. Assim, a maior termoestabilidade do leite pode estar relacionada à maior expressão desse gene. Os autores observaram ainda que a estabilidade da  $\beta$ -Lg era aumentada pela presença de proteínas do fenótipo AA da  $\kappa$ -Cn e diminuída quando houvesse a expressão dos genótipos AB e BB dessa proteína.

Mackle *et al.* (1999) e Stipp *et al.* (2013) também atribuíram a expressão do genótipo BB da  $\kappa$ -Cn às melhores características para o beneficiamento da matéria-prima. O leite de vacas com a presença desse gene quando comparados ao de vacas com alelos resultou em menor tempo de coagulação, além de rendimento e consistência mais elevada de queijos e outros produtos lácteos (ALEANDRI *et al.*, 1990; HALLÉN *et al.*, 2007).

Quanto à expressão dos genes da  $\beta$ -Lg, o alelo A foi relacionado a aumentos na produção de leite, e do teor de proteína, em redução na concentração de caseína e de sólidos totais (CARVALHO *et al.*, 2008). O alelo B, ao maior teor de caseínas (LODES *et al.*, 1997) e de gordura na produção de queijos (BOVENHUIS *et al.*, 1992; FOX; MCSWENNEY, 2003).

Kemenes *et al.* (1999) ao avaliarem o polimorfismo do gene da  $\kappa$ -Cn em raças zebuínas brasileiras, verificaram maior presença do genótipo AA, sendo 93% na raça Gir e 92% na raça Guzará. Biase *et al.* (2005) observaram 91% desse gene em bovinos Nelore.

A presença desse alelo também foi constatada em rebanhos mestiços. Stipp *et al.* (2013) em estudo no município de Tamarana-PR constataram 63% do genótipo AA em animais da raça Girolanda e 60% do genótipo BB na raça Jersey 60%. LIMA (2005) pesquisou bovinos no interior do estado de São Paulo e apurou frequência de 68% do genótipo AA na raça Girolanda e de 64% na Holandesa.

Botaro *et al.* (2009) afirmaram não haver influência do polimorfismo das variantes genéticas sobre as características físico-químicas e de composição do leite, porém, observaram efeito significativo da raça sobre a estabilidade da matéria-prima. De acordo com os autores, as amostras de leite de animais Holandês apresentaram maior estabilidade em relação às de Gir. As alíquotas de vacas Holandesas coagularam, em média, sob maior graduação alcoólica, 79,98°GL, que o leite de animais Gir, 78,23°GL.

Em outro estudo conduzido por LIMA (2005) verificou-se maior resistência do leite à prova do álcool para a raça Holandesa, quando comparada à Girolanda, sendo que a primeira apresentou precipitação na graduação a 80,6 °GL e a segunda a 78,5° GL. O autor ressalta que as variações entre raças de diferentes genótipos podem servir como parâmetro para seleção genética de vacas leiteiras.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, A. S. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey**. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- ABREU, A. S. **Fatores nutricionais e não nutricionais que afetam a composição do leite bovino**. 2015. 271f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
- ABREU, A. S. *et al.* Ocorrência do leite instável no oeste catarinense e sua relação com acidez e tempo de coagulação. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE LECHE INESTABLE, 2, 2011. Colonia del Sacramento. **Anais...** Colonia del Sacramento: SMVU, Uruguai, 2011.
- ALDERSON, E. **Small scale milk collection and processing in developing countries**. FAO 2000. Disponível em:<[www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/ecs/Proceedings](http://www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/ecs/Proceedings)>Acesso em: 20 fev. 2015.
- ALEANDRI, R. *et al.* The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese producing ability. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 2, p. 241-255, 1990.
- BARBOSA, R. S. *et al.* Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 621-628, 2012.
- BARBOSA, S. R. *et al.* Efeito do período de lactação e estabilidade do leite sobre as características físico-químicas do leite. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.3, n.1, p. 7-11, 2009.
- BARBOSA, R. S. *et al.* Ocorrência do leite instável não ácido em vacas pastejando milheto. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1, 2008. Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SEBRAE- CE, 2008.
- BARBOSA, R. S. *et al.* Ensaios preliminares sobre o efeito do Leite Instável Não Ácido (LINA) na industrialização do queijo tipo minas frescal. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PÓS-GRADUAÇÃO, 1., 2006, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006.
- BARCHIESI-FERRARI, C. G. *et al.* Inestabilidad de la leche asociada a componenteslácteos y estacionalidad en vacas a pastoreo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1785-1791, 2007.
- BARROS, L. *et al.* Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, v. 9, p. 315-318, 1999.
- BATTAGLINI, A. P. P. *et al.* Caracterização físico-química e microbiológica do leite bovino instável não ácido em função das estações do ano. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n.1, p. 26-32, 2013.
- BIASE, F. H. *et al.* Analysis of restriction fragment length polymorphism in the kappa-casein gene related to weight expected progeny difference in Nellorecattle. **Genetics and Molecular Biology**, v. 28, n. 1, p. 84-87, 2005.
- BONIZZI, I.; BUFFONI, J.N.; FELIGINI, M. Quantification of bovine casein fractions by direct chromatographic analysis of milk. Approaching the application to a real production context. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 1, p. 165-8, 2009.
- 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.

BOTARO, B. G. *et al.* Polimorfismo da beta-lactoglobulina não afeta as características físico-químicas e a estabilidade do leite bovino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 5, p. 747-753, 2007.

BOVENHUIS, H. *et al.* Association between milk protein polymorphisms and milk production traits. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 9, p. 2549-2559, 1992.

BURCHARD, J. F.; BLOCK, E. Nutrição do gado leiteiro e composição do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1, 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998, p. 16- 19.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº51 de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru e refrigerado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2002. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-onsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=8932>>. Acesso em: 21 nov. 2015.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62, de 29 DE DEZEMBRO DE 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/33395065/dou-secao-1-30-12-2011-pg-6>>. Acesso em: 13 ago. 2014.

CALDEIRA, R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.100, n. 555-556, p. 125-139, 2005.

CARVALHO, M. R. S. *et al.* Associação dos polimorfismos nos loci da  $\kappa$ -caseína e da  $\beta$ -lactoglobulina com parâmetros da produção leiteira na raça Guzerá melhorada para leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 54., 2008, Campo Grande, **Anaiseletrônicos...** Salvador, Sociedade Brasileira de Genética, 2008. Disponível em: <<http://web2.sbg.org.br/congress/sbg2008/pdfs2008/25597.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2014.

CASTANHEIRA, A.C.G. **Controle de Qualidade de Leite e Derivados**. 1º ed. São Paulo: Editora Cap-Lab Indústria e Comércio LTDA, 2010, 270 p.

CASTRO, P. S. **MAF 3340-Tecnologia de leites e derivados**. Apostila de aulas práticas. Goiânia: Departamento de Matemática e Física. Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Católica de Goiás, 2005. 25p. Disponível em: [http://www.ucg.br/site\\_docente/maf/patricia/Apostila%20de%20Aula\\_Pratica.pdf](http://www.ucg.br/site_docente/maf/patricia/Apostila%20de%20Aula_Pratica.pdf). Acesso em: 12 de fev. 2015.

CHASE, L. E.; OVERTON, T. R. **Estratégias de alimentação para otimizar as proteínas do leite**. 2011. Disponível em: < <http://www.nftalliance.com.br/artigos/bovinos-de-leite/estrategias-de-alimenta-o-paraotimizar-a-proteina-do-leite>>. Acesso em: 11 jul. 2014.

CHAVEZ, M. *et al.* Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 2, p. 201-206, 2004.

CIPRANDI, A. **Caracterização físico-química do leite normal e do leite instável não ácido (LINA)**. 2014. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

CIPRANDI, A. *et al.* Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em uma usina de beneficiamento da região metropolitana de Porto Alegre/RS. **Veterinária em Foco**, v. 9, n. 2, p. 128-133, 2012.

COSTABEL, L. M. *et al.* Estudio de la relación entre aptitud a la coagulación por cuajo y prueba de alcohol en muestras de leche de vacas individuales. In: I CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE LEITE INSTÁVEL. 1., 2009, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

COSTABEL, L. M. *et al.* Estudio de la relación entre aptitud a la coagulación por cuajo y prueba de alcohol en muestras de leche de vacas individuales. In: RIBEIRO, M.E.R. *et al.* (org.) **Avanços científicos e caminhos para inovações na América Latina**. Pelotas: Embrapa, p. 63-74, 2010.

DAHL, G. E. Efeito do estresse térmico durante o período seco no desempenho pós-parto. In: CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 14, 2010. Uberlândia, MG. **Anais...** Uberlândia: UFU, p. 357-362, 2010.

DE KRUIF, C. G. HOLT, C. Casein Micelle Structure, Functions and Interactions Advanced Dairy Chemistry. In: FOX P.F.; McSWEENEY, P.L.H. (Org.) **Proteins**, 3 Ed., New York: Kluwer Academic, 2003. v. 1, Chapter 5, p. 233-276.

DEL LAMA, S. N., ZAGO, M.A. Identification of k-casein and b-lactoglobulin genotypes in Brazilian *Bos indicus* and *Bubalus bubalis* populations. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 19, n. 1, p.73-77, 1996.

DEPETERS, E. J.; FERGUSON, J. D.; Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cow. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3192-3209, 1992.

DEPETERS, E. J.; CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2043-2070, 1992.

DEPETERS, E. J.; FERGUSON, J. D.; BAKER; L. D. Nonprotein Nitrogen and protein distribution in the milk of cows. In: SYMPOSIUM ON PROTEIN DEFINITION, 1, 1993. **Proceedings of the symposium on protein definition**. Minneapolis: International Dairy Federation, 1993, p. 7-31.

DESSAUGE, F. *et al.* Effects of nutrient restriction on mammary cell turnover and mammary gland remodeling in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 9, p. 4623-4635, 2011.

DÜRR, J. W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DÜRR, J.W. *et al.* (Org.). **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: UPF, 2004. 331p.

EMBRAPA. GADO DE LEITE. **Estatísticas do leite**. Juiz de Fora, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br>>. Acesso em: 30 de Nov. 2015.

FAGNANI, R. *et al.* Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 5, p. 398-402, 2014.

FARIA, F. J. C. *et al.* Polimorphism analysis of betalactoglobulin gene on Nellore cows and effects on weaning weight of the calves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 3, p. 261-265, 2000.

FERNANDES, R. F. *et al.* Influência da sazonalidade em parâmetros físico-químicos do leite cru recebido por um laticínio no norte de Minas Gerais. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 393, p. 36-41, 2013.

FERNANDES, A. M. *et al.* Relação entre psicrotróficos e frações de caseína do leite longa vida durante o armazenamento. **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p.227-230, 2012.

FERRARETTO, L.F. *et al.* Effect of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 754-763, 2014.

FISCHER, V. *et al.* Alimentação de vacas leiteiras: reflexos sobre a produção leiteira e características físico-químicas do leite. In: RIBEIRO; M. E. R.; ZANELA, M. B.; SCHAFHAUSER Jr., J. (Org.). **Avanços Científicos e caminhos para inovações na América Latina**. Pelotas: Embrapa, 2010, v. 1, p. 125-138.

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

FISCHER, V. *et al.* Prevalência, indução e tratamento do leite instável não ácido (LINA) no sul do Brasil. In: DIAZ GONZÁLEZ, F. *et al.* (Org.). **Qualidade do leite bovino: variações no trópico e no subtropical**. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2012.

FISCHER, V. *et al.* Behavior of lactating dairy cows under mild and severe heat stress with free access or not to shadow. In: CONFERENCE INFORMATION & SCIENTIFIC PROGRAM OF JAM. 2014. 1. Kansas City: American Dairy Science Association. 2014. 160 p.

FORTUNA, L. A. P. **Estudo da estabilidade da micela de caseína em leite estável e instável não ácido**. 2015. 146 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia)- Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2015.

FOX, P. F.; BRODKORB, A. The casein micelle: historical aspects, current concepts and significance. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p.677-684, 2008.

FOX, P. F.; KELLY, A. L. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects - Part 1. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 6, p. 500-516, 2006.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Advanced dairy chemistry: proteins**. 3. ed. New York: Kluwer Academic, 2003. v.1. 740p.

FRUSCALSO, V. **Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência do leite instável não ácido**. 2007. 132f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

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

GABBI, A. M. **Características do leite bovino produzido em sistemas de alimentação e de produção com diferentes aportes tecnológicos**. 2013. 139 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

GOFF, H. D. University of Guelph. Dairy Science and Technology. [online], 2009. Disponível em: <<https://www.uoguelph.ca/foodscience/dairy-science-andtechnology/dairy-chemistry-and-physics>>. Acesso em: 15 ago. 2013.

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. 58-68.

GONZÁLEZ-SEDANO, M. *et al.* Effect of residual calf suckling on clinical and sub-clinical infections of mastitis in dual-purpose cows: Epidemiological measurements. **Research in Veterinary Science**, v. 89, n. 3, p. 362-366, 2010.

GUINARD-FLAMENT, J. *et al.* Adaptations of mammary uptake and nutrient use to once-daily milking and feed restriction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 11, p. 5062-5072, 2007.

GUINARD-FLAMENT, J. *et al.* Changes in mammary uptake and metabolic fate of glucose with once-daily milking and feed restriction in dairy cows. **Reproduction Nutrition Development**, v. 46, n. 5, p. 589-98, 2006.

HALLEN, E. *et al.* Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin-induced milk gels. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 7, p. 791-799, 2007.

HOLT, C. An equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk. **European Biophysics Journal**, v. 33, n. 5, p. 421-434, 2004.

HOLT, C. *et al.* Invited review: Caseins and the casein micelle: their biological functions, structures, and behavior in foods. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6127-6146, 2013.

HORNE, D.; PARKED, T. Factors affecting the ethanol stability of bovine milk. IV Effects of forewarming. **Journal of Dairy Research**, v. 48, n. 2, p.405-415, 1981.

IAMETTI, S. *et al.* Modifications occur at different structural levels during the heat denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin. **European Journal of Biochemistry**, v. 237, n.1, p.106-112, 1996.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. **Indicadores IBGE**: Estatística da produção pecuária, 2014. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=22&i=P>>. Acesso em: 13 nov. 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. **Indicadores IBGE**: Estatística da produção pecuária, 2015. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=22&i=P>>. Acesso em: 30 nov. 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. **Indicadores IBGE**: Produção da pecuária municipal, 2011. Disponível em: <[http://http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa\\_resultados.php?id-pesquisa=21](http://http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id-pesquisa=21)>. Acesso em: 15 set. 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. **Indicadores IBGE**: Estatística da produção pecuária, 2014. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=22&i=P>>. Acesso em: 13 nov. 2015.

IMAFIDON, G. I. *et al.* Effect of genetic polymorphism on the thermal stability of beta-lactoglobulin and kappa-casein mixture. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 6, p.1791-1802, 1991.

KEMENES, P. A. *et al.* K-casein, B-lactoglobulin and growth hormone allele genetic distances in Nelore, Gyr, Guzerá, Caracu, Charolais, Canchimand Santa Gertrudis cattle. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 4, p. 539-541, 1999.

KONTOPIDIS, G. *et al.* Invited review: betalactoglobulin: binding properties, structure and function. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 785-796, 2004.

LA MANNA, A. **Alimentación y urea em leche**: Aspectos nutricionales, reproductivos y ambientales. In: JORNADA DE LECHERA. INIA, Estanzuela, Uruguay, 2002, p. 69-74. (Serie actividades de Difusión, 287).

LAZZAROTTO, T. C. *et al.* Correlação entre leite instável não ácido (LINA) e suas implicações sobre a fração nitrogenada proteica e não proteica do leite cru produzido na região Oeste do Paraná. In: XVII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR. 17. 2012, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), 2012.

LEWIS, M. J. The measurement and significance of ionic calcium in milk – a review. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, n. 1, p. 1-13, 2011.

LIMA, Y. V. R. **Variantes genéticas de kappa-caseínas em vacas leiteiras e características físico-químicas e de composição do leite**. 2005, 84f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 2005.

LIVNEY, Y. D. Milk proteins as vehicles for bioactives. **Current Opinion in Colloid & Interfaces Science**, v. 15, n. 1-2, p. 73–83, 2010.

LODES, A. *et al.* The influence of genetic variants of milk proteins on the composition and technological properties of milk: 3. Content of protein, casein, whey protein and casein number. **Milchwissenschaft**, v. 52, p. 3-8, 1997.

LÖNNERDAL, B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 6, p.1537-43, 2003.

LOPES, L. C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, Estado de São Paulo**. 2008. 63f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

MACHADO, S. C. **Fatores que afetam a estabilidade do leite bovino**. 2010. 191f. Tese (Doutorado em Produção Animal)–Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MACKLE, T. R. *et al.* Nutritional influences on the composition of milk from cows of different protein phenotypes in New Zealand. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 1, p.172-180, 1999.

MARQUES, L. T. *et al.* Produção leiteira, composição do leite e perfil bioquímico sanguíneo de vacas lactantes sob suplementação com sal aniônico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 5, p. 1088-1094, 2011.

MARQUES, L. T. *et al.* Suplementação de vacas holandesas em estágio avançado de lactação. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1392-1398, 2010.

MARTINS, C. M. M. R. *et al.* Effect of metabolic acidosis in lactating dairy cows on concentration of milk proteins. In: Joint Annual Meeting, 2014, Kansas City. **Anais...Kansas City: American Dairy Science Association – ADSA**, 2014.

MARX, I. G. *et al.* Ocorrência do leite instável não ácido na região oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2011.

MOLINA, L. H. *et al.* Correlation between heat stability and alcohol test of milks at a milk collection center. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 33, n. 2, p. 233-240, 2001.

NAKAMURA, A. Y. *et al.* Correlação entre as variáveis climáticas e a qualidade do leite de amostras obtidas em três regiões do estado do Paraná. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zootecnia da UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 103-108, 2012.

NASCIF, C. **Indicadores técnicos e econômicos em sistemas de produção de leite de quatro mesorregiões do Estado de Minas Gerais**. 2008. 110f. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

NEGRI, L. *et al.* **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.

NEGRI, L. M. **Estúdio de losfactores físico-químicos de La lechecruda que inciden sobre la estabilidad térmica**. 2002. 169f. Tesis (Magister em Ciencia y Tecnologia de los Alimentos) - Facultad de Ingeniaria Quimica, Santa Fé, Argentina, 2002.

NOUSIAINEN, J.; SHINGFIEL, K. J.; HUHTANEN, P. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 2, p. 386-398, 2004.

O'CONNELL, J. E. *et al.* Influence of ethanol on the rennet-induced coagulation of milk. **Journal of Dairy Research**, v. 73, n. 3, p. 312-317, 2006.

OLIVEIRA, C. A. F. *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. 508-515, 2011.

OLIVEIRA, C. A. F. *et al.* Composition, somatic cell count and casein fractions of ethanol unstable milks. **Acta Scientiarum Technology**, v. 35, n. 1, p. 153-156, 2013.

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

OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C.D. Instabilidade da caseína em leite sem acidez adquirida. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 102, n. 561-562, p.192, 2007.

PALMQUIST, D. L.; DENISE BEAULIEU, A.; BARBANO, D. M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 6, p. 1753-1771, 1993.

PECORARI, M. *et al.* Milk with abnormal coagulation: acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. **Sci. Tec. Latt.-Casearia**, v. 35, n. 4, p. 263-278, 1984.

PENNA, C. F. A. M. *et al.* **Determinação dos teores de gordura, extrato seco total e extrato seco desengordurado do leite**. Belo Horizonte: Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, 2004. 8 p. [Notas de aula]

PEREZ JUNIOR, R. O. Leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZALEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELLI, R.S (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 29-43.

PHADUNGATH, C. Casein micelle structure: a concise review. **Journal Science Technology**, v. 27, n. 1, p. 201-212, 2005.

PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 645-651, 2006.

PINTO, C. L. O. *et al.* Bactérias psicrotróficas e importância do controle de sua contaminação na cadeia do leite. In: PINTO, C. L. O. *et al.* **Qualidade microbiológica do leite cru**. Viçosa: EPAMIG, 2013, p. 135-156.

PONCE, P. Caracterização da síndrome do leite anormal: um enfoque das suas possíveis causas e correção. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4, 1999. Caxambú. **Anais...** Caxambú: Instituto Fernando Costa, p.61-76, 1999.

PONCE, P. C.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. p.61-72.

RECHE, N. L. M. **Influência do armazenamento do leite em resfriador por expansão direta sobre a contagem de micro-organismos e estabilidade da caseína.** 2013. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, 2013.

RIBEIRO, M. E. R. *et al.* Leite instável no Sul do Rio Grande do Sul, importância econômica e social In: ZANELA, M.B. *et al.* **Leche inestable.** Desafios en el Cono Sur.1 ed. Montevideo: Universidad de la República, 2014, v. 1, p. 91-98.

RIBEIRO, M. E. R. *et al.* **Nova Metodologia para Verificação do Leite Instável não Ácido (LINA).** Embrapa.Comunicado Técnico. Dezembro, 2008. Pelotas, RS. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/746791/1/comunicado203.pdf>>. Acesso em: 21 out. 2015.

RIBEIRO, M. E. R. *et al.* **Método de determinação de cálcio iônico no leite bovino.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 18 p. 2010.

ROBITAILLE, G.; BRITTEN, M.; PETITCLERC, D. Effect of a differential allelic expression of kappa-casein gene on ethanol stability of bovine milk. **Journal of Dairy Research**, v. 68, n. 1, p. 145-49, 2001.

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

ROMA JUNIOR, L. C. *et al.* Estudo da proteína do leite em termos de quantidade e qualidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. **Anais....** Goiânia: Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite [2006]. (CD-ROM).

ROSA, L. S.; QUEIROZ, M. I. Avaliação da qualidade do leite cru e resfriado mediante a aplicação de princípios APPCC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 422-430, 2007.

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

SAS Institute. **SAS/STAT. Guide for personal computers.** Cary, 1 v. 2004.

SAWYER, L.; KONTOPIDIS, G. The core lipocalin, bovine  $\beta$ -lactoglobulin. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1.482, n.1-2, p.136-148, 2000.

SCHMIDT, F. A. **Efeito do suprimento das exigências de energia e/ou proteína na recuperação da instabilidade do leite ao teste do álcool.** 2014, 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages-SC, 2014.

SEBRAE/FAEMG. **Diagnóstico da pecuária leiteira do estado de Minas Gerais em 2005:** relatório de pesquisa. Belo Horizonte: FAEMG, 2006. 156 p. Disponível em: <<http://www.faemg.org.br/Cbontent.aspx?Code=6065&fileDownload=True>> Acesso em: 26 jun. 2012

SHANNON, L. K. *et al.* Glycomacropeptide and alfa- lactoalbumin supplementation of infant formula affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, n.5, p.1261-1268, 2003.

SILVA. M. F, SILVA. A. C. Produção de leite: análise dos dados no Brasil, estado de Minas Gerais, Zona da Mata e microrregião de Viçosa. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 3, n. 2, p. 74-83, 2013.

SILVA, L. C. C. *et al.* Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78% em leite bovino. **Revista Instituto Laticínio Cândido Tostes**, v. 67, n. 384, p. 55-60, 2012.

- SILVA, I. J. O. *et al.* Efeitos da climatização do curral de espera na produção de leite das vacas Holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 5, p. 2036-2042, 2002.
- SINGH H. Heat stability of milk. **International Journal of Dairy Technol**, v. 57, n.1-2, p. 111-119, 2004.
- SMIDDY, M. A.; KELLY, A. L.; HUPPERTZ, T. Solvent mediated disruption of bovine casein micelles at alkaline pH. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 54, n. 21, p. 8288–8293, 2006.
- SOBHANI, S.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, Suppl. 1, p. 58, 1998.
- SOUZA, P. P. M. *et al.* Ocorrência do leite instável não ácido em vacas leiteiras no município de Viçosa- AL. **Veterinária Notícias**, v. 17.n. 2, p. 144-147, 2011.
- STIPP, A. T. *et al.* Polimorfismos genéticos da kappa-caseína e da beta-lactoglobulina e produção de leite em bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n.1, p. 275-280, 2013.
- STUMPF, M. T. *et al.* Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, v. 7, n. 7, p. 1137-1142, 2013.
- STUMPF, M. T. **Respostas biológicas de bovinos das raças Holandesa e Girolando sob estresse térmico**. 2014, 69f. Tese (Doutorado em Zootecnia) -Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2014.
- TAVERNA, M.*et al.* Factores que afectan la estabilidad térmica y al alcohol en leche de calidad higiénico-sanitaria. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DO LEITE INSTÁVEL, 1., 2009. Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 1 CD-ROMTRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 4 Ed. Santa Maria: UFSM, 2010. 195p.
- TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 5. Ed. Santa Maria: UFSM, 2013. p.59-79.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE–USDA. **Dairy**: world markets and traces.Washington: USDA, 2014. 25p. Disponível em <<http://www.fas.usda.gov/dlp/circular/2009/122909dairyfull.pdf>>.Acesso em: 15 set. 2015.
- VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. **Características do leite**. Alegre, ES: Pro-reitoria de Extensão - Universidade Federal do Espírito Santo, 2007. (Boletim Técnico)
- VIERO, V. **Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido**. 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2008.
- VIOTTO, W. H.; CUNHA, C. R. Teor de sólidos do leite e rendimento industrial. In: ALBENONES, J. M.; DÜRR, J. W; COELHO, K. O. (Ed.) **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. 1 ed. Goiânia: Talento, 2006. p. 241-258.
- VOGES, G. J. **Qualidade microbiológica da água e do leite e ocorrência de Leite Instável Não Ácido (LINA) em propriedades de agricultura familiar do Planalto Norte de Santa Catarina**. 2015. 99p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2015.

WERNCKE, D. **Perfil das propriedades e ocorrência de leite instável não ácido na região do Vale do Braço do Norte, sul do Estado de Santa Catarina.** Lages-SC, 2012. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2012.

YOSHIDA, S. Studies in the Urtrech abnormality of milk in the Miyuki Dairy Farm. **Journal Japanese Applied Biology Science**, v. 20, n. 2, p. 39-54, 1981.

ZANELA, M. B. *et al.* Leite instável não ácido (LINA): do campo à indústria. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 6, 2015. Curitiba. **Anais eletrônicos...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2015. 16p.

ZANELA, M. B. *et al.* Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool In: ZANELA, M. B. *et al.* **Leche inestable.** Desafios en el Cono Sur.1 ed. Montevideo: Universidad de la República, 2014. p.9-16.

ZANELA, M. B. *et al.* Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool. CONFERENCIA INTERNACIONAL SOBRE LECHE INESTABLE, 2., 2011. **Anais...** Montevideo: Universidad de la Republica, 2011. p.2-5.

ZANELA, M. B. *et al.* Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.1009-1013, 2009.

ZANELA, M. B. *et al.* Leite Instável Não Ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.835-840, 2006.

ZOCCAL, R. *et al.* Mudanças no mapa da produção de leite no Brasil. In: FERNANDES, E.N. *et al.* **Novos desafios para o leite.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2007. p. 24-34.

**CAPÍTULO 2 - PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE E OCORRÊNCIA DE LEITE  
INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NO NORTE DE MINAS GERAIS**

(CAPÍTULO REDIGIDO DE ACORDO COM AS NORMAS DO PERIÓDICO ARQUIVO  
BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA)

## Parâmetros de qualidade do leite e ocorrência de Leite Instável Não Ácido em diferentes municípios no Norte de Minas Gerais<sup>1</sup>

[Parameters of milk quality and occurrence of Unstable Not Acid Milk in different municipalities in the North of Minas Gerais<sup>1</sup>]

L. Rodrigues Oliveira<sup>1\*</sup>, A. D. Mathias<sup>2</sup>, N. J. F. Oliveira<sup>3</sup>, R. R. Wenceslau<sup>4</sup>, M. S. Pinto<sup>5</sup>

<sup>1,3,4,5</sup> Instituto de Ciências Agrárias–Universidade Federal de Minas Gerais – Montes Claros, MG

<sup>2</sup>COOPNORTE– Cooperativa dos produtores de leite do Norte de Minas Gerais– Montes Claros, MG

### RESUMO

Objetivou-se verificar parâmetros físico-químicos de qualidade do leite e ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em banco de dados de laticínio recolhido no Norte de Minas Gerais. Coletaram-se informações de janeiro a dezembro de 2014, correspondendo a 10.654 amostras de leite provenientes de 290 unidades produtoras de leite, distribuídas na região. Foram avaliados efeitos de meses, de estação do ano e das rotas sobre as amostras de leite classificadas como normais, LINA, alcalinas e ácidas. Além disso, foi verificado o efeito dessas variáveis quanto à ocorrência de alíquotas fora dos padrões, em relação à acidez titulável, densidade e crioscopia. Realizou-se a avaliação dos dados, por meio do teste do Qui-quadrado e análises de variância, agrupamento, correspondência simples e múltipla, discriminante, regressão logística e de correlação. A porcentagem de amostras classificadas como normais foi de 79,46%; LINA, 12,93%; leite alcalino 4,14% e ácido 3,48%. LINA apresentou maior ocorrência nos meses de setembro, outubro e novembro, sem, entretanto, constatar influência de estações do ano. Maiores frequências dessa anormalidade foram observadas nas rotas de Ubaí, 15,94% e Brasília de Minas, 15,17%. Os valores de acidez titulável oscilaram de 2,13% em julho a 16,01% em outubro e foram maiores na estação chuvosa, 10,57%. Para a densidade, o percentual de alíquotas fora dos padrões normativos foi mais elevado nos meses de outubro, 5,38%, e março, 4,88%. Enquanto para crioscopia, no mês de janeiro, com 9,64% e abril, 8,32%. Nesse estudo, embora fossem verificadas alterações quanto à estabilidade do leite, foi identificada maior porcentagem de amostras dentro da normalidade. O aumento da frequência de alíquotas positivas ao teste do álcool ocorreu no final do período seco. LINA esteve associada ao período de transição da estação seca para a chuvosa.

**Palavras-chave:** acidez titulável, estabilidade protéica, estabelecimentos leiteiros processamento industrial.

---

\*Autor para correspondência (*corresponding author*)  
E-mail: lhigiarodrigues@yahoo.com.br

## ABSTRACT

It was aimed to verify parameters of milk quality as well as the occurrence of not acid unstable milk (*LINA*) using a dairy industry database from North region of Minas Gerais state. Data comprised information from January to December of 2014, corresponding to 10,654 milk samples from 290 production units distributed in the region. The effects of months, seasons and routes on milk samples classified as normal, *LINA*, alkaline and acid were evaluated. Moreover, the effect of these variables regarding the occurrence of non-pattern samples in relation to the titratable acidity, density and freezing point was investigated. The evaluation of the data was performed by means of chi-square test, analysis of variance, cluster analysis, simple and multiple correspondence analyses, discriminant analysis, logistic regression and Pearson correlation. The percentage of samples classified as normal was 79.46%; *LINA*, 12.93%; alkali milk, 4.14% and 3.48%, acid. *LINA* was more frequent in the months of September, October and November. However, the influence of season was not detected. Greater frequencies of this abnormality were observed in routes of Ubai, 15.94%, and Brasília de Minas, 15.17%. The titratable acidity values ranged from 2.13%, in July, to 16.01%, in October, and were higher in the rainy season. Regarding the density parameter, the percentage of non-pattern samples was higher in October, 5.38%, and March, 4.88%. The freezing point frequencies of non-pattern samples were 9.64%, in January, and 8.32%, in April. In this study, although changes were observed for milk stability, higher percentage of samples within the pattern for evaluated parameters was observed. The increased frequency of positive samples to the test of alcohol occurred at the end of the dry season. *LINA* was associated with transition period between dry and rainy season.

**Keywords:** milk production, titratable acidity, protein stability, dairy industry.

## INTRODUÇÃO

O leite instável não ácido (*LINA*) caracteriza-se por perda de estabilidade protéica à prova do álcool a 72% (v/v), porém sem apresentar caráter ácido acima de 18° D (Marx, 2011). Esse fenômeno gera prejuízos econômicos aos produtores e à indústria láctea. Pois, a matéria-prima pode ser rejeitada por laticínios, os quais julgam o leite inapto ao processamento em consequência do risco de coagulação durante o tratamento térmico (Holt *et al.*, 2013).

Relatos dessa alteração foram identificados em diferentes países, tais como, Japão (Yoshida, 1981), Itália (Pecorari *et al.*, 1984), Irã (Sobhani *et al.*, 1998), Uruguai (Barroset *al.*, 1999), Cuba (Ponce, 1999), Bolívia (Alderson, 2000), Argentina (Negriet *al.*, 2001), Chile (Barchiesi-Ferrari, 2007) e Brasil (Fischer *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2013; Gabbi, 2013; Ciprandi, 2014). As causas de *LINA*, entretanto, ainda não foram

bem esclarecidas. Essa anormalidade possui origem complexa e multifatorial, a qual precisa ser estudada (Zanela *et al.*, 2009; Fischer *et al.*, 2012).

O conhecimento da distribuição de LINA ao longo do ano e em diferentes regiões pode contribuir para esclarecer a instabilidade protéica, além disso, permite que medidas preventivas sejam adotadas por produtores e laticínios, reduzindo os prejuízos econômicos (Marcon *et al.*, 2014).

Contudo, estudos relacionados ao LINA em regiões tropicais semiáridas, a exemplo do Norte de Minas Gerais, são pouco comuns (Fernandes *et al.*, 2013). Nesse bioma, as condições de clima seco e quente, assim como, a predominância de rebanhos bovinos mestiços e mantidos em sistemas extensivos podem favorecer a perda de estabilidade do produto (Bataglini *et al.*, 2013; Fisher *et al.*, 2014, Stumpf, 2014).

Dessa maneira, objetivou-se verificar parâmetros de qualidade do leite e ocorrência de LINA, por meio de estudo em banco de dados de produção de laticínio no Norte de Minas Gerais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado utilizando dados de laticíniolocalizado no município de Montes Claros, Norte de Minas Gerais. Coletaram-se informações de janeiro a dezembro de 2014, correspondendo a 10.654 amostras, provenientes de 290 unidades produtoras de leite (UPL) distribuídas em 18 municípios da região. Essas UPL eram caracterizadas por pequenas e médias propriedades, em sua maioria com padrão de produção familiar, com baixa tecnificação e especialização na área. Juntas as propriedades leiteiras produziam média de 30.000 litros por dia, sendo procedentes de animais mestiços e mantidos em sistema extensivo.

As coletas de leite foram realizadas por responsáveis técnicos pelo transporte, sendo retiradas diretamente de tanques de imersão e/ou expansão das UPL, com intervalos de 48 horas. Nessas, as amostras foram submetidas ao teste do álcool a 80% para verificação da termoestabilidade. Na análise, independentemente dos resultados serem positivos ou negativos, as alíquotas foram identificadas e conservadas sob refrigeração em caixas isotérmicas para exame posterior na indústria.

As análises de qualidade para todas as alíquotas foram efetuadas por laboratório da empresa obedecendo-se aos parâmetros de qualidade estabelecidos pela Instrução Normativa N° 62 (Brasil, 2011). Avaliou-se a estabilidade ao álcool nas concentrações 76, 75, 74 e 72%. Amostras com floculação na prova a 72% foram submetidas ao teste de acidez titulável e consideradas como LINA as que demonstraram acidez entre 14 e 18° Dornic. Na determinação da densidade foram considerados os valores de 1,028 a 1,034 g.mL<sup>-1</sup> e de índice crioscópico máximo a temperatura de -0,530 H.

Para análise dos dados, as amostras de leite foram divididas em quatro classes, classificadas conforme a acidez titulável e a reação ao teste do álcool a 72%. Nessas considerou-se: leite normal, acidez 14 a 18°D e estável ao álcool; LINA, acidez 14 a 18°D e instável ao álcool; leite alcalino, acidez inferior a 14°D e estável ao álcool; leite ácido, acidez superior a 18°D e instável ao álcool.

Na análise de densidade foram estabelecidos como dentro do padrão, valores no intervalo de 1,028 a 1,034 g.mL<sup>-1</sup>. Quanto à crioscopia, atenderam-se aos padrões normativos as amostras com valores entre -0,512 e -0,540°C, após realizada a conversão de graus Horvert (°H) para escala Celsius (°C) por meio da fórmula °C = 0,9656 x °H (Brasil, 2011).

No estudo do efeito da estação do ano sobre as características físico-químicas do leite, os resultados de frequência foram divididos em duas épocas do ano. Foi determinado como estação seca, o intervalo dos meses de abril a outubro, e a de estação chuvosa, de novembro a março, conforme Minuzzi *et al.* (2007) e Alvarez *et al.* (2013).

Para avaliação das diferentes regiões em estudo e melhor interpretação dos dados, agruparam-se os 18 municípios em nove grupos de rotas, estabelecidas com base nas linhas de captação de leite usadas pela indústria, proximidade e acesso entre as propriedades. As rotas apresentaram o respectivo número de amostras: Bocaiúva, 461; Brasília de Minas, 1.227; Capitão Enéas, 1.299; Francisco Sá, 2.793; Icaraí de Minas, 595; Juramento, 757; Montes Claros, 1.997; Pedras de Maria da Cruz, 438 e Ubaí, 1.087.

Análises de consistência foram realizadas procedendo à eliminação de dados discrepantes. Considerou-se, na avaliação das variáveis quantitativas, os totais de amostras: acidez titulável 9.357; densidade, 9.165 e crioscopia, 9.752. Quanto às

variáveis categóricas, o número de amostras utilizadas para as variáveis classes de leite e deresultado ao teste do álcool, foram 10.271 e 10.561, respectivamente.

Foram verificadas, por mês, estação do ano e rotas, as frequências de ocorrência das classes de leite, de resultado ao teste do álcool e da presença de amostras dentro e fora dos padrões normativos para acidez titulável, densidade e crioscopia. Posteriormente, realizou-se o teste do Qui-Quadrado admitindo a taxa de erro tipo I de 5%, para estudo da dispersão dos resultados. A análise foi efetuada por meio do procedimento *proc freq* do software SAS 9.4 (SAS Institute, Cary NC).

Para estudo do efeito de mês, estação do ano e de rotas sobre as variáveis acidez titulável, densidade e crioscopia, foi realizada análise de variância, por meio do procedimento *proc glm* do Software SAS 9.4 (SAS Institute, Cary NC). Análise de correlação de Pearson também foi estimada para as mesmas variáveis, usando o procedimento *proc corr* do Software Software SAS 9.4 (SAS Institute, Cary NC).

Com objetivo de avaliar associação entre as classes de leite e mês, e classes de leite e rotas, efetuou-se análise de correspondência simples. Análise de correspondência múltipla também foi adotada para avaliação dos resultados da prova do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia quanto aos meses e estações do ano. Essas foram realizadas por meio do procedimento *proc corresp* do Software SAS 9.4 (SAS Institute, Cary NC).

De modo a verificar semelhança entre meses e rotas em relação à presença de amostras fora dos padrões oficiais, foi conduzida análise de agrupamento por meio do método hierárquico de Wards. Consideraram-se na avaliação a acidez titulável, densidade, crioscopia e frequência da classe LINA, sendo realizada utilizando o procedimento do Software *Proc Cluster* do SAS 9.4 (SAS Institute, Cary NC).

Para avaliar existência de efeito dos grupos de meses e rotas formados na análise de agrupamento procedeu-se análise de variância simples sobre as características acidez titulável, densidade e crioscopia e as médias obtidas foram comparadas por meio do teste de T considerando o *p-value* de 0,05 para rejeição da hipótese de nulidade.

Análise discriminante foi efetuada para definir quais variáveis foram mais importantes na separação de grupos em relação às estações do ano e rotas, sendo utilizadas na avaliação a acidez titulável, densidade e crioscopia. Essa escolha foi realizada por meio do método *stepwise*, adotando o procedimento *proc Step disc* do

Software SAS 9.4(SAS Institute, Cary NC). Tais grupos estudados constituíram-se dos mesmos formados na análise de agrupamento anterior.

No estudo da probabilidade de ocorrência de LINA, compararam-se os diferentes grupos de meses e de rotas formados na análise de agrupamento, sendo realizada a regressão logística, utilizando o procedimento *proc logistic* do Software SAS 9.4 (SASInstitute, Cary NC). O modelo considerado para a regressão da variável binária LINA pode ser descrito como:

$$\ln\left(\frac{P_{ijk}}{1-P_{ijk}}\right) = \beta_0 + \beta_1 x_{1i} + \beta_2 x_{2j} + \varepsilon_{ijk}, \text{ em que};$$

$P_{ijk}$  é a probabilidade da amostra de leite  $k$  proveniente da mesorregião  $i$  amostrada no grupo de mês  $j$ ;  $\beta_0$  é a constante geral relacionada à probabilidade média de ocorrência de LINA;  $\beta_1$  e  $\beta_2$  são os coeficientes de regressão relacionados aos efeitos de região e grupo de meses sobre a probabilidade de LINA, respectivamente.  $\varepsilon_{ijk}$  é o erro aleatório associado à cada observação.

## RESULTADOS

A frequência de amostras classificadas como normais foi 79,46%, sendo superior às de LINA, com 12,93%, leite alcalino, com 4,14% e ácido, com 3,48%. Houve diferença na dispersão das classes de leite normal, LINA, alcalino e ácido, entre os meses ( $\chi^2 = 673,51$ ;  $P < 0,05$ ) e estação do ano ( $\chi^2 = 18,39$ ;  $P < 0,05$ ). Avaliando-se separadamente a variável LINA entre os meses, foi observada diferença significativa ( $\chi^2 = 176,67$ ;  $P < 0,05$ ), sendo a maior ocorrência em setembro, outubro e novembro, ou seja, transição do período seco para o chuvoso. No entanto, ao avaliar a distribuição de LINA e as outras classes entre as estações do ano, verificou-se semelhança estatística. Quanto à análise de frequência das classes de leite entre as mesorregiões observou-se efeito significativo ( $\chi^2 = 147,48$ ;  $P < 0,05$ ). A ocorrência de LINA foi mais elevada na mesorregião de Ubaí, com 15,94%, seguida por Brasília de Minas, com 15,17% (Tab.1).

Tabela 1. Distribuição da frequência das classes de amostras de leite normal, LINA, alcalino e ácido, assim como, de amostras fora dos padrões quanto ao resultado do testado álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia entre os meses, estação do ano e rotas

	Classes de leite (%)				Amostras fora do Padrão (%)			
	Normal	LINA	Alcalina	Ácida	Prova do Álcool	Acidez titulável	Densidade	Crioscopia
<b>Mês</b>								
Janeiro	76,03	16,34	1,57	6,07	29,99	11,52	3,19	9,64
Fevereiro	81,03	7,71	7,54	3,72	15,09	13,55	2,03	5,68
Março	77,03	10,89	7,01	5,07	16,59	12,43	4,88	6,17
Abril	83,80	10,35	2,31	3,53	14,13	5,86	4,17	8,32
Mai	85,91	11,16	0,68	2,25	13,63	3,03	1,41	4,99
Junho	88,71	8,80	1,13	1,35	11,60	2,49	1,14	3,50
Julho	88,96	8,91	0,58	1,55	10,55	2,13	1,71	1,97
Agosto	79,09	14,55	3,48	2,88	18,03	6,37	3,32	1,36
Setembro	62,87	21,76	7,98	7,39	33,14	15,40	3,50	7,27
Outubro	65,12	18,92	12,90	3,07	25,16	16,01	5,38	7,26
Novembro	75,13	20,99	1,59	2,29	26,86	4,76	4,33	5,11
Dezembro	81,66	13,45	1,77	3,13	23,92	7,06	2,85	4,91
<b>Estação</b>								
Seca	80,36	12,87	3,94	2,83	17,02	6,81	2,91	4,80
Chuva	78,31	13,00	4,39	4,30	21,89	10,79	3,44	6,59
<b>Rotas</b>								
Bocaiúva	85,56	7,66	5,25	1,53	10,41	7,43	3,78	2,31
Brasília de Minas	76,18	15,17	4,97	3,68	21,45	9,54	2,48	6,64
Capitão Enéas	81,66	10,93	4,31	3,11	16,89	8,22	3,75	5,38
Francisco Sá	80,75	12,79	4,10	2,37	18,03	7,11	3,08	4,96
Icaraí de Minas	75,48	12,96	5,43	6,13	21,84	12,77	1,92	7,84
Juramento	84,71	10,06	4,27	0,96	15,23	5,68	4,40	3,48
Montes Claros	77,72	14,05	4,34	3,88	20,16	8,91	4,21	6,06
Pedras de M <sup>a</sup> da Cruz	82,28	11,89	2,80	3,03	16,89	6,54	1,10	7,67
Ubaí	74,90	15,94	1,89	7,27	27,13	10,20	1,67	6,14
Total	79,46	12,93	4,14	3,48	19,22	8,37	3,15	5,57

A frequência de amostras positivas ao teste do álcool a 72% foi de 2.030 (19,22%), enquanto a de negativas 8.531 (80,78%), conforme Tab.1. Verificou-se entre estas efeito significativo ( $\chi^2=337,56$ ;  $P<0,05$ ) em relação aos meses, sendo que ao longo do ano os valores oscilaram entre 10,55% em julho e 33,14% em setembro. Foi observada maior porcentagem de amostras positivas no período de chuva, comparado ao de seca ( $\chi^2=39,96$ ;  $P<0,05$ ), 21,89% e 17,02%, respectivamente. Além disso, pode ser constatada diferença significativa entre as rotas estudadas ( $\chi^2=89,55$ ;  $P<0,05$ ). A rota Ubaí obteve maior número de amostras fora dos padrões, 287 (27,13%), seguida de Icaraí de Minas, 128 (21,84%) e Brasília de Minas, 257 (21,45%).

O número de amostras positivas ao teste do álcool a 72% foi de 2.030, 19,22%, enquanto a de negativas correspondeu a 8.531, 80,78%, de acordo a Tab.1. Verificou-se diferença significativa na distribuição de amostras positivas ao teste do álcool quando comparados os diferentes meses ( $\chi^2=337,56$ ;  $P<0,05$ ), ao longo do ano esses valores oscilaram entre 10,55% em julho e 33,14% em setembro. Foi observada maior porcentagem de aliquotas positivas no período de chuva, comparado ao de seca ( $\chi^2=39,96$ ;  $P<0,05$ ), 21,89% e 17,02%, respectivamente. Além disso, pode ser constatada diferença significativa entre as rotas estudadas ( $\chi^2=89,55$ ;  $P<0,05$ ). A rota Ubaí obteve maior frequência de amostras fora do padrão, 27,13%, seguida por Icarai de Minas, 21,84%, e Brasília de Minas, 21,45%.

Quanto à análise de acidez titulável (Tab.1) constatou-se diferença na dispersão de amostras fora do padrão entre os meses ( $\chi^2=312,05$ ;  $P<0,05$ ) e estações do ano ( $\chi^2=45,98$ ;  $P<0,05$ ). Maiores valores de alíquotas em desconformidade foram observadas em outubro, com 16,01%, e setembro, com 15,40%, sendo mais elevada na estação chuvosa. A rota Icarai de Minas apresentou maior ocorrência, correspondendo a 12,77%.

Nas avaliações de densidade e crioscopia foram observadas diferenças nas distribuições de amostras fora dos padrões ( $\chi^2=55,74$ ,  $p<0,05$  e  $\chi^2=110,72$ ,  $p<0,05$ ). Maior frequência de amostras com densidade fora do padrão ocorreu nos meses de outubro (5,38%) e março (4,88%), enquanto, para crioscopia aconteceu em janeiro (9,64%) e abril (8,32%). Em relação às estações do ano houve efeito significativo ( $\chi^2=14,48$ ;  $P<0,05$ ) apenas para a crioscopia (Tab.1). Na avaliação das rotas constatou-se diferença significativa para ambas variáveis. A rota de Juramento (Tab.1) apresentou maior frequência de amostras fora dos padrões quanto à densidade, 4,4%, enquanto, Icarai de Minas maior ocorrência para a crioscopia, 7,84%.

De acordo com a análise de variância (Tab.2), existe diferença significativa ( $P<0,05$ ) quanto às médias de acidez titulável, densidade e crioscopia entre os meses. Na comparação com os outros meses, julho, com 14,78°D foi similar a junho, com 14,99°D de outubro, com 14,95°D. Apesar de estarem dentro dos padrões, maio e abril obtiveram maiores valores médios para a densidade 1,03134 e 1,03125g/mL, respectivamente.

Para crioscopia, maio, com  $-0,5185^{\circ}\text{C}$  e junho, com  $-0,519^{\circ}\text{C}$  corresponderam às maiores médias, enquanto novembro, com  $-0,525^{\circ}\text{C}$  e setembro com  $-0,524^{\circ}\text{C}$ , às menores.

Quando comparadas as estações do ano, acidez titulável, densidade e crioscopia, essas variáveis diferiram significativamente. Maiores médias foram observadas no período chuvoso para acidez titulável,  $15,7^{\circ}\text{D}$  e densidade,  $1,031\text{g/mL}$ , enquanto a crioscopia foi superior no período seco, com  $-0,521^{\circ}\text{C}$ . Todos os valores observados para essas características estão de acordo com os padrões estabelecidos.

Tabela 2. Distribuição de médias de acidez titulável, densidade e crioscopia do leite cru quanto aos meses no Norte de Minas Gerais

Mês	Acidez titulável ( $^{\circ}\text{D}$ )	Densidade ( $\text{g/mL}$ )	Crioscopia ( $^{\circ}\text{C}$ )
Janeiro	15,98 a	1,03116 bc	-0,5226 c
Fevereiro	15,31 cd	1,03119 b	-0,5212 b
Março	15,50 bc	1,03114 bc	-0,5236 d
Abril	15,47 bc	1,03125 ab	-0,5209 b
Maio	15,29 cd	1,03134 a	-0,5185 a
Junho	14,99 ef	1,03103 c	-0,5190 a
Julho	14,78 f	1,03071 d	-0,5224 c
Agosto	15,07 de	1,03062 de	-0,5210 b
Setembro	15,67 b	1,03053 e	-0,5240 de
Outubro	14,95 ef	1,03023 f	-0,5210 b
Novembro	15,68 b	1,03060 de	-0,5248 e
Dezembro	15,54 bc	1,03063 de	-0,5234 d

\*Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste T ( $p < 0,05$ ).

Quanto às rotas foi constatada diferença significativa entre as médias de acidez titulável, densidade e crioscopia (Tab.3). As rotas Bocaiúva, com  $14,71^{\circ}\text{D}$  e Juramento, com  $14,89^{\circ}\text{D}$  apresentaram menores valores de acidez titulável, enquanto a de Ubaí, com  $15,85^{\circ}\text{D}$  e Icaraí de Minas, com  $15,67^{\circ}\text{D}$  corresponderam as maiores. A rota de maior valor médio observado para densidade foi Pedras de Maria de Cruz, com  $1,03128\text{g/mL}$  e menor Bocaiúva, com  $1,03064\text{g/mL}$ , a qual se diferenciou de todas as outras rotas, exceto de Juramento, com  $1,03077\text{g/mL}$ . A menor média de crioscopia ocorreu para a rota Icaraí de Minas, com  $-0,5226$ , sendo semelhante às rotas de Bocaiúva, com  $-0,5215^{\circ}\text{C}$ , Capitão Enéas, com  $-0,5224^{\circ}\text{C}$  e Ubaí, com  $-0,5223^{\circ}\text{C}$ .

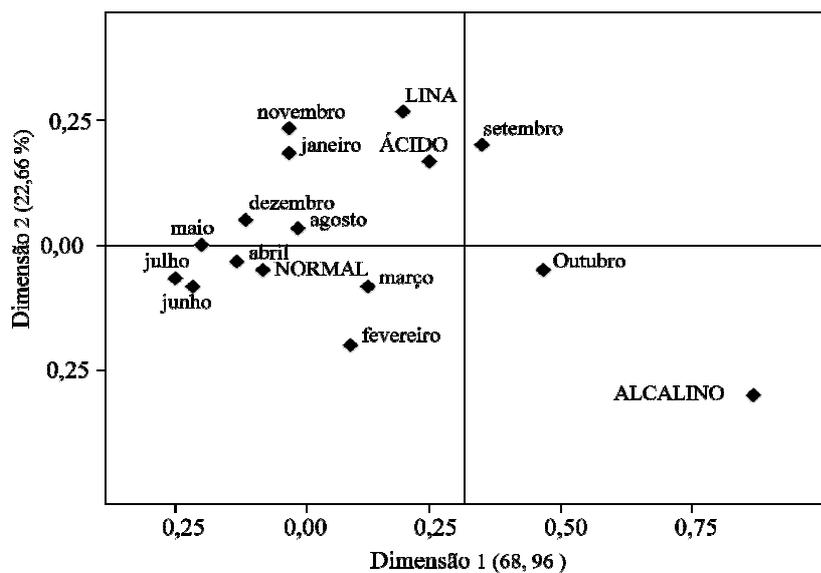
Tabela 3. Distribuição de médias de acidez titulável, densidade e crioscopia quanto às diferentes localidades no Norte de Minas Gerais

Rotas	Acidez titulável (°D)	Densidade (g/mL)	Crioscopia (°D)
Bocaiúva	14,71 d	1,03064 e	-0,5215ab
Brasília de Minas	15,30bc	1,03086 cd	-0,5211 a
Capitão Enéas	15,32bc	1,03081 d	-0,5224 b
Francisco Sá	15,17 c	1,03086 d	-0,5215 a
Icaraí de Minas	15,67 a	1,03100 bc	-0,5226 b
Juramento	14,89d	1,03077 de	-0,5210 a
Montes Claros	15,36 b	1,03088 cd	-0,5214 a
Pedras de M <sup>a</sup> da Cruz	15,31bc	1,03128 a	-0,5210a
Ubaí	15,85 a	1,03104 b	-0,5223 b

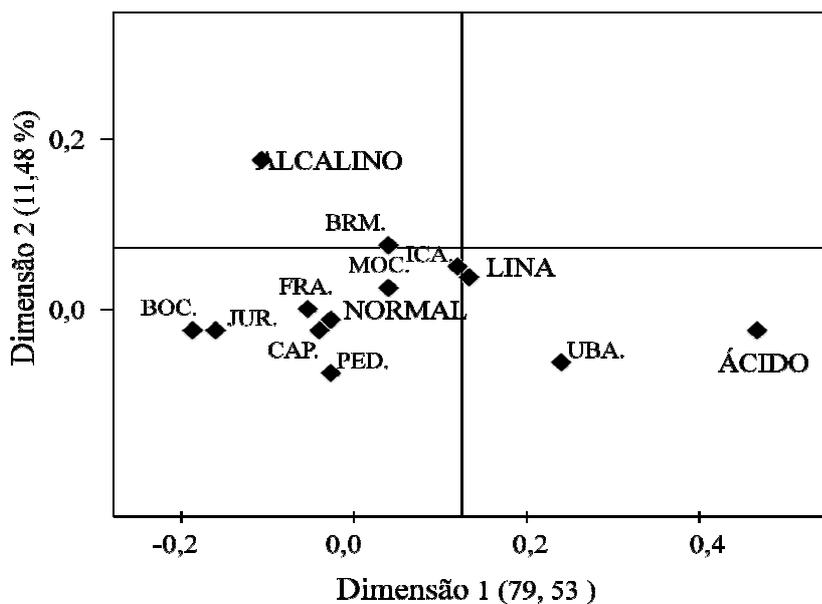
\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste T ( $p < 0,05$ ).

A partir da análise de correlação de Pearson, verifica-se associação negativa de média magnitude entre as variáveis acidez titulável e crioscopia (-0,5508,  $p < 0,0001$ ). Porém, as correlações entre densidade, acidez titulável e crioscopia indicam não haver associação entre essas características (-0,0063 e 0,0123,  $p > 0,05$ ).

No estudo de correspondência das classes de leite com as variáveis meses (Fig.1) e rotas (Fig.2) as duas dimensões formadas nos gráficos explicaram 91,01 e 91,62% da inércia acumulada, respectivamente. A análise de correspondência simples entre estação do ano e as classes de leite, demonstrou que a classe acidez titulável foi a mais importante para o teste do Qui-quadrado. Em relação aos meses, setembro apresentou maior associação com as classes de leite LINA e ácido, enquanto abril às de leite normal. Para a avaliação considerando as diferentes rotas, pôde ser observada relação entre a presença de LINA e a rota Icaraí de Minas e a presença de leite normal às rotas de Capitão Enéas e Francisco Sá.



**Figura 1.** Gráfico de correspondência para classe de leite entre meses, conforme Instrução Normativa IN 62/2011 do MAPA.

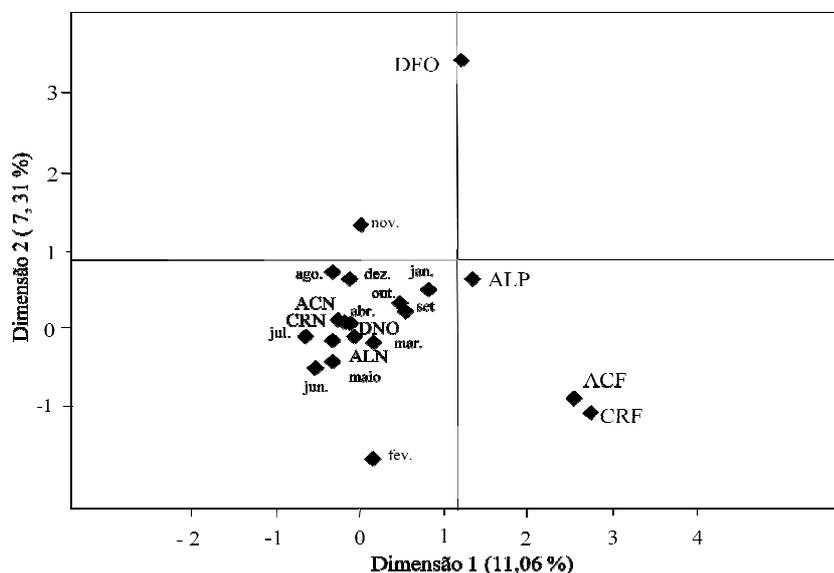


Nota: Rotas-Bocaiúva (BOC), Brasília de Minas (BRM), Capitão Enéas (CAP), Francisco Sá (FRA), Icarai de Minas (ICA), Juramento (JUR), Montes Claros (MOC), Pedras de Maria da Cruz (PED), Ubaí (UBA).

**Figura 2.** Gráfico de correspondência para as classes de leite entre rotas, conforme Instrução Normativa IN 62/2011 do MAPA.

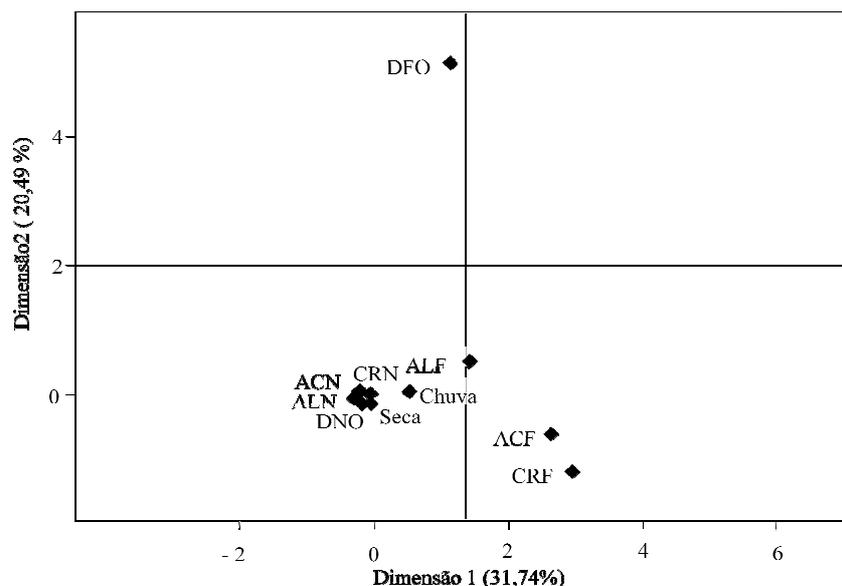
Na análise de correspondência múltipla, considerando mês e resultados do teste do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia (Fig. 3), observaram-se que os meses de abril e março estão mais associados às amostras dentro dos padrões normais, embora a variação entre meses demonstrada pelas dimensões plotadas corresponda a apenas 18,35% da inércia total.

Referente à estação do ano, quanto aos resultados do teste do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia (Fig.4), verificaram-se associação entre a estação seca e a frequência de amostras dentro dos padrões estabelecidos, sendo explicadas 52,23% da inércia acumulada no gráfico apresentado.



Nota: Amostras estáveis à prova do álcool- álcool padrão (ALP), amostras instáveis à prova do álcool- álcool fora do padrão (ALF), acidez normal (ACN), acidez fora do padrão (ACF), densidade normal (DNO), densidade fora do padrão (DFO), crioscopia normal (CRN), crioscopia fora do padrão (CRF), meses: Janeiro (JAN), fevereiro (FEV), março (MAR), abril (ABR), maio (MAI), junho (JUN), agosto (AGO), setembro (SET), outubro (OUT), novembro (NOV), dezembro (DEZ).

**Figura 3.** Análise de correspondência múltipla quanto ao resultado do teste do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia entre meses, conforme Instrução Normativa IN 62/2011 do MAPA.

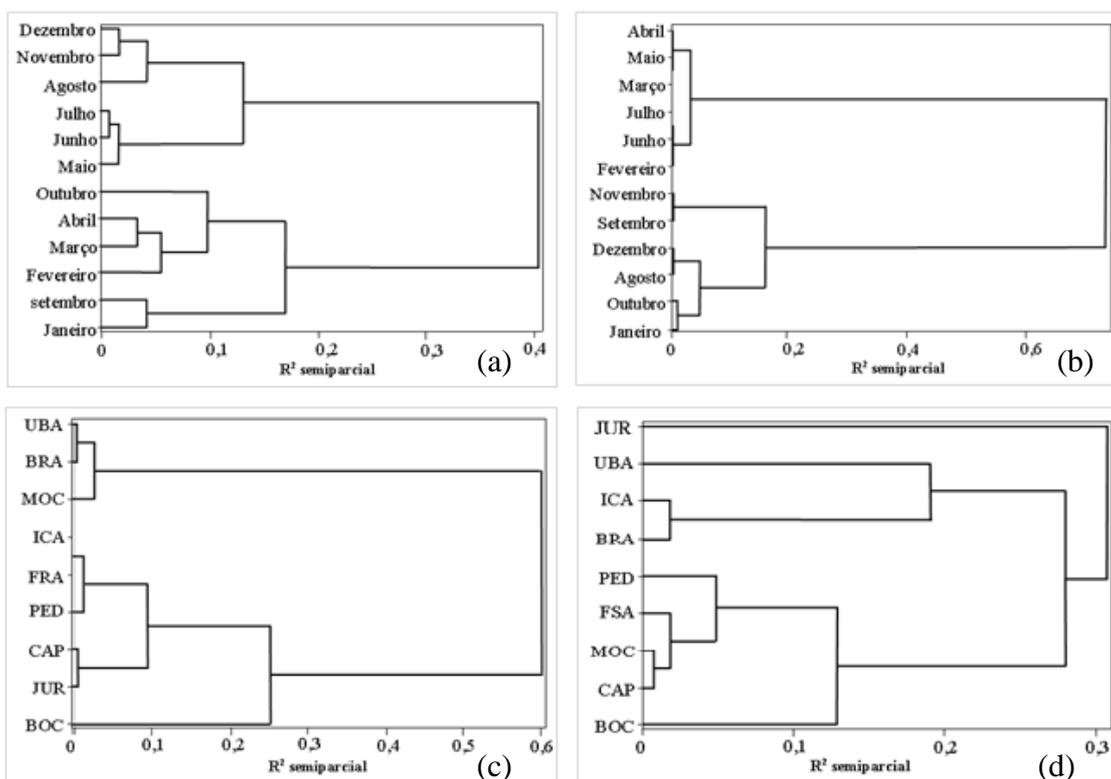


Nota: Amostras estáveis à prova do álcool- álcool padrão (ALP), amostras instáveis à prova do álcool - álcool fora do padrão (ALF), acidez normal (ACN), acidez fora do padrão (ACF), densidade normal (DNO), densidade fora do padrão (DFO), crioscopia normal (CRN), crioscopia fora do padrão (CRF).

**Figura 4.** Análise de correspondência múltipla quanto ao resultado do teste do álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia em relação à estação do ano, conforme Instrução Normativa IN 62/2011 do MAPA.

A partir da análise de agrupamento, ao se avaliar o resultado do teste ao álcool, acidez titulável, densidade e crioscopia entre os meses, verificou-se a formação de quatro grupos, os quais explicaram 0,706 da variação dos dados. Com base nesses critérios o grupo 1 foi formado por setembro e janeiro, grupo 2, fevereiro, março, abril e outubro, grupo 3, maio, junho e julho e grupo 4, agosto, novembro e dezembro (Fig. 5 a). Na avaliação das mesmas variáveis quanto às rotas observou-se a formação de cinco grupos, sendo: 1- Juramento, 2- Ubaí, 3- Bocaiúva, 4- Icaraí de Minas e Brasília de Minas, 5- Pedras de Maria da Cruz, Montes Claros, Francisco Sá e Capitão Enéas. Houve representatividade de 90,5% da variação total (Fig. 5d).

Considerando apenas a frequência da classe LINA, foi constatada a formação de dois grupos em relação aos meses. Esses compreenderam agosto a janeiro e fevereiro a julho, correspondendo de acordo ao parâmetro  $R^2$  a 0,736 da variação total (Fig. 5b). Para a mesma característica conferiu-se a formação de quatro grupos com base nos critérios que explicaram 95% da variação entre rotas. Foram inclusos nestes grupos as rotas: 1- Bocaiúva, 2- Capitão Enéas e Juramento, 3- Icaraí de Minas, Francisco Sá e Pedras de Maria da Cruz, 4- Ubaí, Brasília de Minas e Montes Claros (Fig. 5c).



Nota: Rotas-Bocaiúva (BOC), Brasília de Minas (BRM), Capitão Enéas (CAP), Francisco Sá (FRA), Icarai de Minas (ICA), Juramento (JUR), Montes Claros (MOC), Pedras de Maria da Cruz (PED), Ubaí (UBA).

**Figura 5.** Dendograma da análise agrupamento para meses (a) e rotas (d) quanto às variáveis acidez titulável, densidade e crioscopia, assim como, da frequência de leite LINA entre meses (b) e rotas (c).

Em relação à análise de variância entre grupos de meses formados na análise de agrupamento, observou-se diferença estatística para acidez titulável, crioscopia e densidade. O primeiro grupo apresentou maior média para acidez titulável, 15,84°D. Quanto à densidade, o grupo 4 com 1,03062 g/mL obteve menor valor médio, se diferenciando dos demais. Demonstraram menor índice crioscópico os grupos 1 e 4, que apresentaram o valor de -0,5230°C, igualmente. Como descrito na Tab.4.

Tabela 4. Comparação de médias entre grupos de meses para acidez titulável, densidade e crioscopia do leite.

Grupos de Meses	Acidez titulável (°D)	Densidade (g/mL)	Crioscopia (°C)
1	15,84 a	1,03097ab	-0,5230 c
2	15,30 b	1,03091 b	-0,5214 b
3	15,00 c	1,03101 a	-0,5201 a
4	15,39 b	1,03062 c	-0,5230 c

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste T ( $p < 0,05$ ). Nota: Grupos de Meses- 1. setembro e janeiro, 2. fevereiro, março, abril e outubro, 3. maio, junho e julho e 4. agosto, novembro e dezembro.

Na comparação dos grupos formados pelas rotas (Tab.5) verificou-se diferença nas médias observadas de acidez titulável, densidade e crioscopia. As rotas de Juramento e Bocaiúva apresentaram menor acidez titulável e menor densidade quando comparadas aos outros grupos de rotas. Para a crioscopia a rota de Juramento se diferiu de todas as rotas tendo apresentado maior índice crioscópico, com valor de  $-0,5210^{\circ}\text{C}$ .

Tabela 5. Análise de variância entre grupos para acidez titulável, densidade e crioscopia quanto às diferentes localidades do Norte de Minas Gerais

Grupos de Rotas	Acidez titulável (°D)	Densidade (g/mL)	Crioscopia (°C)
1	14,89 d	1030,77c	-0,52104 a
2	15,85a	1031,04 a	-0,52238 b
3	14,71d	1030,64c	-0,52156 a
4	15,42b	1030,91 b	-0,52159 a
5	15,27 c	1030,89 b	-0,52168 a

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste T ( $p < 0,05$ ). Nota: Grupos de rotas-1. Juramento, 2. Ubaí, 3. Bocaiúva, 4. Icarai de Minas e Brasília de Minas, 5. Pedras de Maria da Cruz, Montes Claros, Francisco Sá e Capitão Enéas.

Na análise discriminante, acidez titulável, densidade e crioscopia se mostraram importantes para diferenciação das estações seca e chuvosa, assim como, para os grupos de meses formados na análise de agrupamento. A crioscopia foi a variável de maior importância para diferenciação entre grupos, embora explique apenas 2% das diferenças entre as estações (Tab. 6).

Tabela6. Análise discriminante quanto às variáveis acidez titulável, densidade e crioscopia para diferenciação entre grupos em relação às estações do ano

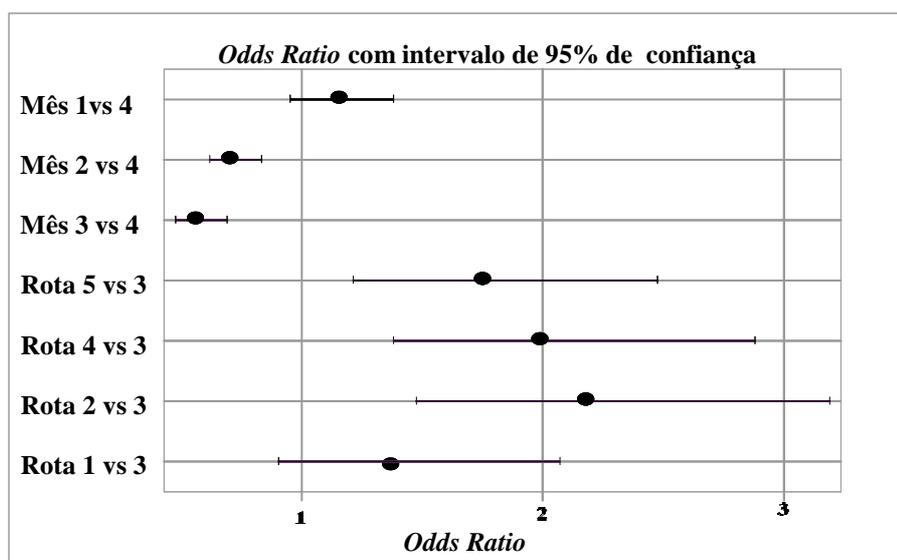
Variáveis	R <sup>2</sup> parcial	F	P valor
Crioscopia	0,0166	127,77	<0,0001
Densidade	0,0044	33,66	<0,0001
Acidez titulável	0,0006	4,19	0,0406

Na diferenciação dos grupos de rotas formados na análise de agrupamento a acidez titulável, densidade e crioscopia foram importantes, sendo a acidez titulável a característica que mais explicou diferença entre essas variáveis (Tab.7).

Tabela7. Análise discriminante quanto às variáveis acidez titulável, densidade e crioscopia para diferenciação entre grupos de rotas

Variáveis	R <sup>2</sup> parcial	F	P valor
Acidez	0,0109	20,76	< 0,0001
Densidade	0,0025	4,71	0,0009
Crioscopia	0,0013	2,39	0,00485

Conforme a análise de regressão logística (Fig.6), grupo de meses e de rotas foram significativos sobre a probabilidade de ocorrência de LINA (P<0,05). O valor de pares de observações-predições concordantes com o modelo utilizado foi de 52,8 e de discordantes 35,7. Para aferência do ajuste do modelo proposto a estatística "c" foi calculada, e apresentou o valor de 0,585, portanto, o modelo se adéqua aos dados.



Nota: Grupo de Meses-1. setembro e janeiro, 2. fevereiro, março, abril e outubro, 3. maio, junho e julho, 4. agosto, novembro e dezembro. Grupo de rotas-1. Juramento, 2. Ubaí, 3. Bocaiúva, 4. Icarai de Minas e Brasília de Minas, 5. Pedras de Maria da Cruz, Montes Claros, Francisco Sá e Capitão Enéas.

**Figura 6.** Valores de *odds ratio* para comparação de grupos de meses e de rotas formados na análise de agrupamento na avaliação de LINA.

Por meio das razões de chances (*odds ratio*) estimadas (Fig. 6) verificou-se que os grupos de meses 1 (setembro e janeiro) e 4 (agosto, novembro e dezembro) foram os que apresentaram maior chance de LINA. O grupo de meses 3, representados por maio, junho e julho, demonstrou menor condição de ocorrência de LINA. A probabilidade para ocorrer LINA nesse grupo correspondeu a 56% da chance de ocorrência de LINA em relação ao grupo 4, servindo como base de comparação na análise. Enquanto, amostras do grupo 2, referente aos meses de fevereiro, março, abril e outubro, evidenciou 70% da probabilidade do grupo 4 de se apresentarem como sendo de leite LINA.

Em relação aos grupos de rotas, tomando o grupo 3 (Bocaiúva) como base comparativa dos resultados, a rota Juramento (grupo 1) e a rota Bocaiúva apresentaram a mesma chance de ocorrência de LINA. Amostras provenientes da rota Ubaí (grupo 2) são as que possuem maior chance de serem LINA. A possibilidade de uma amostra originada desse grupo ser LINA é 2,169 vezes superior às provenientes da rota Bocaiúva. A chance de amostras dos grupos de rotas 4 (Icarai de Minas e Brasília de Minas) e 5 (Pedra de Maria da Cruz, Montes Claros, Francisco Sá e Capitão Enéas) é 1,98 e 1,738 vezes maior de serem LINA do que aquelas provenientes da rota de Bocaiúva, respectivamente.

## DISCUSSÃO

Nesse estudo, embora verificadas alterações quanto à estabilidade do leite, foram identificadas maior porcentagem de amostras dentro da normalidade e baixa ocorrência de LINA (Tab.1). O resultado pode ser justificado, em função da predominância de animais menos especializados para a produção de leite no Norte de Minas Gerais. As UPL da região apresentam em sua maioria animais mestiços, com menores índices de produtividade, os quais comparados às raças mais produtivas, são menos exigentes do ponto de vista nutricional (Menezes *et al.*, 2014). De acordo com Rhoads *et al.* (2009)

raças altamente especializadas apresentam maior demanda de nutrientes e alta produção de calor metabólico, sendo mais sensíveis as variações nas condições de manejo e alimentação. Logo, vacas leiteiras em ambientes não ajustados ao seu potencial genético, como em regiões tropicais, estão mais propensas a perturbações metabólicas, que comprometem a qualidade e composição do leite. Dessa forma, é esperada menor ocorrência de LINA e baixo índice de amostras em desconformidade, como observado nessa pesquisa.

Souza *et al.* (2011) ao avaliarem 276 alíquotas na região de Viçosa-AL também constataram maior porcentagem de amostras consideradas normais, 83%. No entanto, os índices de 6% de leite LINA, 9%, ácidos, e 8% alcalinos, diferiram dos obtidos nesse trabalho. Lopes (2008) no Estado de São Paulo e Azevedo (2014) no Sul do país conferiram porcentagens mais elevadas, sendo classificadas como LINA, 25,5% e 19,8%, e, como ácidas, 14,0% e 10,2%, respectivamente. Considerando somente as amostras positivas ao teste do álcool a 72%, estes autores verificaram que a frequência de LINA foi de 64,77% e 66%, semelhante ao verificado no presente estudo, 65,41%. Comportamentos distintos podem ser explicados em função das características das propriedades, dos rebanhos e das condições climáticas de cada região, pois a alteração dos aspectos físico-químicos do leite é de natureza multifatorial (Zanela *et al.*, 2009).

A frequência de amostras positivas ao teste do álcool apresentou oscilação com maior representatividade no final do inverno, correspondendo ao período seco (Tabela 1). A ocorrência de LINA mostrou-se associada à transição da época seca para a chuvosa (Tabela 1), cenário justificado na análise de agrupamento (Fig. 5c), na qual foi evidenciada a formação de dois grupos de meses, sendo o intervalo de agosto a janeiro, o de maior ocorrência. Conforme Ponce e Hernández (2001) o aumento de amostras instáveis, assim como de LINA, ocorrem mais frequentemente no final da estação seca, quando existe baixa disponibilidade de pastos e forragens. Situação mais comum no período de rebrota das pastagens, época na qual há maiores chances de acontecer restrição alimentar, segundo Battaglini *et al.* (2013). De acordo com Gabbi (2013), nessas condições a possível redução do aporte de energia ao tecido epitelial mamário tende a interferir na estabilidade do leite.

Na região Norte mineira outros fatores limitantes também seriam o clima tropical quente e seco, correspondendo à seca no inverno, e a precipitação pluviométrica

inferior a 1000 mm anual, conforme Alvarez *et al.* (2013). Segundo Rhoads *et al.* (2009) e Sevi e Caroprese (2012) a exposição de rebanhos a altas temperaturas pode contribuir para redução do conteúdo protéico no leite, uma vez que, o aumento da permeabilidade dos capilares sanguíneos favorece a elevação da quantidade de enzimas proteolíticas. Assim como descrito em outros trabalhos, esperam-se valores de pH mais elevados e de acidez titulável mais baixos em animais sob estresse térmico por calor (Bernabucci e Calamari, 1998; Calamari e Mariani, 1999; Botaro *et al.*, 2009).

Maior número de amostras foi considerado apto ao processamento industrial quanto à acidez titulável, crioscopia e densidade (Tab.1), conforme legislação vigente (Brasil, 2011). Fernandes *et al.* (2013) no Norte de Minas Gerais observaram situação similar para acidez titulável e densidade entre as diferentes épocas do ano, além de diferença estatística. Os valores médios também obedeceram a tendência semelhante à verificada nesse estudo, com variação de 14 a 15°D e 1,030 a 1,031g/mL, respectivamente. Ciprandi (2014) e Ponce Ceballo e Hernández (2001) em Porto Alegre-RS verificaram semelhança entre os meses para crioscopia, enquanto Martins *et al.* (2006) na região da Bacia de Pelotas-RS e Botaro *et al.* (2007) em Pirassununga-SP relataram influência sazonal no aumento desse parâmetro, o qual foi associado à estação seca e aos meses mais quentes do ano.

A maior acidez titulável constatada no período chuvoso pode estar relacionada às condições desfavoráveis típicas dessa estação. Maiores índices de umidade e temperatura, além das condições de higiene inadequadas colaboram para a proliferação microbiana, a qual por ação dos micro-organismos mesófilos transformam a lactose do leite em ácido (Chavez *et al.*, 2004).

A pequena variação da densidade do leite indica não existir qualquer adulteração evidente, além disso, esse parâmetro é geralmente estável em condições adequadas de produção (Tronco, 2013), demonstrando semelhança entre as estações.

A causa provável da diminuição do índice crioscópico no período chuvoso poder ser relacionada ao aumento da acidez titulável (Fonseca, 1995). De fato foi verificada correlação de -0,5598 entre essas variáveis (Tab.5), ou seja, para as mesmas amostras, quando observados altos valores de acidez titulável, existe a tendência de se verificar baixos índices crioscópicos. Em contrapartida na estação seca, o possível aumento da crioscopia do leite pode ser relacionado ao efeito de concentração dos

constituintes sólidos do produto (Paiva *et al.*, 2012). Conforme os autores, isso ocorre em função da diminuição da produção de leite que normalmente acontece nesse período do ano.

As rotas de Ubaí, Brasília de Minas e Icaraí de Minas estiveram mais associadas à presença de LINA, como também apresentaram maior número de amostras em desconformidade com a legislação (Tab.1). Variações nas características físico-químicas das amostras podem estar associadas à distância entre as regiões e o laticínio. Essas se encontram mais distantes da indústria em relação às outras rotas, a 167,7; 106 e 152,9 Km, respectivamente. Desse modo, pode ter ocorrido efeito da rota, sendo importante maior acompanhamento da indústria nas localidades que demonstraram problemas. Zeni *et al.* (2013) ressalta que no Brasil ainda se produz leite *in natura* de baixa qualidade, sendo os principais fatores interferentes na mudança de composição da matéria-prima, a localização geográfica, a temperatura de conservação e a distância do transporte entre a fazenda e a indústria, justificando os resultados obtidos no presente trabalho.

## CONCLUSÃO

A maioria dos resultados de qualidade do leite se encontra dentro dos padrões considerados normais, demonstrando o controle da produção de leite na região, que pode ser atribuída à implantação de programas de qualidade e a intensificação do monitoramento da atividade pela indústria láctea.

A ocorrência de 7,66 a 12,93% de LINA na região Norte de Minas Gerais é considerada baixa quando comparada ao estudo de dados de outras regiões do Brasil. Essa anormalidade pode ser associada ao período de transição da estação seca para a chuvosa, sendo necessárias intervenções no manejo das propriedades nesse período para redução desses valores.

As rotas que mais apresentaram amostras em desconformidade com a legislação foram a de Icaraí de Minas e Ubaí, o que sugere necessidade de maior acompanhamento dessas rotas, principalmente por se apresentarem mais distantes do laticínio.

É pertinente o estudo dos parâmetros de qualidade do leite, assim como, da ocorrência de LINA na região. A partir dessas pesquisas, indústrias e produtores podem presumir possíveis entraves à produção, permitindo que medidas preventivas sejam implantadas.

## REFERÊNCIAS

ALDERSON, E. *Small scale milk collection and processing in developing countries*. E-mail conference. FAO 2000. Disponível em: [www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/ecs/proceedings](http://www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/ecs/proceedings). Acesso em: 20 fev. 2004.

ALVARES, C.A., STAPE, J.L., SENTELHAS, P.C. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteor. Z.*, v. 22, n.6, p. 711-728, 2013.

AZEVEDO, C.S. *Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) na Região da Grande Florianópolis – SC*. 2014. 28f. Monografia (Graduação em Zootecnia)- Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

BARCHIESI-FERRARI, C.G.; WILLIAMS-SALINAS, P.A.; SALVO-GARRIDO, S.I. Inestabilidad de la leche asociada a componentes lácteos y estacionalidad en vacas a pastoreo. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.42, n.12, p.1785-1791, 2007.

BARROS, L.; DENIS, N.; GONZÁLEZ, O.; GALAIN, C. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. *Pract. Vet.*, v. 9, p. 315-318, 1999.

BATTAGLINI, A.P.P.; BELOTI, V.; FAGNANI, R. et al. Caracterização físico-química e microbiológica do leite bovino instável não ácido em função das estações do ano. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v. 35, n.1, p.26-32, 2013.

BERNABUCCI, U.; CALAMARI, L. Effects of heat stress on bovine milk yield and composition. *J. Zoo. Nut. Anim.*, n. 24, n. 6, p 247-257, 1998.

BOTARO, B.G.; LIMA, Y.V.L.; CORTINHAS, C.S. et al. Effect of the kappa-casein gene polymorphism, breed and seasonality on physicochemical characteristics, composition and stability of bovine milk. *R. Bras. Zootec.*; v.38, n.12, p.2447-2454, 2009.

BOTARO, B.G.; LIMA, Y.V.L.; AQUINO, A.A. et al. Polimorfismo da beta-lactoglobulina não afeta as características físico-químicas e a estabilidade do leite bovino. *Pesq. Agro. Bras.*, v.42, n.5, p.747-753, 2007.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62, de 29 DE DEZEMBRO DE 2011. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 30 dez. 2011. Disponível em: <http://www.jusbrasil.com.br/diarios/33395065/dou-secao-1-30-12-2011-pg-6>. Acesso em: 13 ago. 2014.

CALAMARI, L.; MARIANI, P. Effects of the hot environment conditions on the main milk cheesemaking properties. *J.Zoo. Nut. Anim.*, n. 24, n. 6, p. 259-271, 1999.

CIPRANDI, A. *Caracterização físico-química do leite normal e do leite instável não ácido (LINA)*. 2014. 64f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

CHAVEZ, M.; NEGRI, L.; TAVERNA, M.A.; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. *J. Dairy Res.*, v.71, p.201-206, 2004.

FAGNANI, R.; BELONI, V.; BATTAGLINI, A.P. Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. *Pes. Vet. Bras.*, v.34, n.5, p.398-402, 2014.

FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; ZANELA, M.B.; MARQUES, L.T. Leite instável não ácido: um problema solucionável? *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, v.13, n.3, p.838-849 jul./set., 2012.

FERNANDES, R.F.; PEREIRA, A.S.F.; PINHO, L. Influência da sazonalidade em parâmetros físico-químicos do leite cru recebido por um laticínio no norte de Minas Gerais. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*, v. 68, n. 393, p. 36-41, 2013.

FONSECA, L.M.; RODRIGUES, R.; SOUZA, M. R. Índice crioscópico do leite. *Cad. Tecn. Esc. Veterinária UFMG*, n. 13, p. 73-83, 1995.

GABBI, A.M. *Características do leite bovino produzido em sistemas de alimentação e de produção com diferentes aportes tecnológicos*. 2013. 139 f. Tese (Doutorado)-Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

HOLT, C. et al. Invited review: Caseins and the casein micelle: their biological functions, structures, and behavior in foods. *J. Dairy Sci.*, v. 96, n. 10, p. 6127-6146, 2013.

MARX, I. G.; LAZZAROTTO, T.C.; DRUNKLER, D.A.; COLLA, E. Ocorrência do leite instável não ácido na região oeste do Paraná. *Revista Ciências Exatas e Naturais*, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2011.

MARTINS, P.R.G.; SILVA, C.A.; FISCHER, V. et al. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. *Ciênc. Rural*, v.36, n.1, p.209-214, 2006.

MENEZES, I.R. et al. Caracterização de unidades agrícolas familiares produtoras de leite no norte do estado de Minas Gerais. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*, v. 69, n. 3, p. 153-163, 2014.

MINUZZI, R.B.; SEDIYANA, G.C.; BARBOSA, E.M.; MELO JÚNIOR, J.C.F. Climatologia do comportamento do período chuvoso da Região Sudeste do Brasil. *Rev. Bras. Meteorol.*, v.22, p.338-3444, 2007.

NEGRI, L.M. Estudio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre La estabilidad térmica. 2002. 169f. Tesis (Magister em Ciencia y Tecnologia de los Alimentos) Facultad de Ingeniaria Quimica, Argentina, 2002.

NAKAMURA, A.Y.; ALBERTON, L.R.; OTUTUMI, L.K. et al. Correlação entre as variáveis climáticas e a qualidade do leite de amostras obtidas em três regiões do estado do Paraná. *Arq. Ciênc. Vet. Zool.*, v.15, n.2, p.103-108, 2012.

LOPES, L.C. *Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, Estado de São Paulo*. 2008. 63f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

PAIVA, C.A.V.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R.S.; LANA, A.M.Q. Evolução anual da qualidade do leite cru refrigerado processado em uma indústria de Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet.Zootec.*, v.64, n.2, p.471-478, 2012.

PECORARI, M.; FPSSA E.;AVANZINI, G.; MARIAN, P. Milk with abnormal coagulation: acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. *Sci. Tec. Latt. Cas. XXXV*: 4:263-278, 1984. In: Ponce Ceballo, 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 metabolismo de vacas leiteiras*. Ed.: González, F.H.D. et al., Porto Alegre, 2001.

PONCE, P. Caracterização da síndrome do leite anormal: um enfoque das suas possíveis causas e correção. In: Simpósio Internacional sobre Produção Intensiva de Leite, IV, *Anais...* Instituto Fernando Costa (Caxambu), p.61-76, 1999.

PONCE, P.C.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.p. 61-72.

RHOADS, M.L.; RHOADS, R.P.; VANBAALE, M.J. et al.Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.*, v. 92, n.5, p.1986-1987, 2009.

STUMPF, M.T. **Respostas biológicas de bovinos das raças Holandesa e Girolando sob estresse térmico**. 2014, 69f. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2014.

SEVI, A.; CAROPRESE, M. Impact of heat stress on milk production, immunity and udder health in sheep: A critical review. *Small Rum. Res.*, v. 107, p.1-7, 2012.

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. 80, n.1, p. 68-68, 1998.

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

TRONCO, V.M. *Manual para inspeção da qualidade do leite*. 5. Ed. Santa Maria: UFSM, 2013. p.59-79.

YOSHIDA, S. Studies in the Utrecht abnormality of milk in the Miyuki Dairy Farm. *J. Fac. Appl. Biol. Sci.*, v. 20, n. 2, p.71-80, 1981.

ZANELA, M.B., RIBEIRO, M. E. R., FISCHER, V. et al. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.4, p.1009-1013, 2009.

ZENI, M.P.; MARAN, M.H.S.; SILVA, G.P.R et al. Influência dos microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado para produção de UHT. *Unoesc & Ciência - ACET*, v.4, n.1, p.61-70, 2013.