



UDESC

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**QUALIDADE DO LEITE E INCIDÊNCIA DE
LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NA REGIÃO
EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA**

GUILHERME AUGUSTO MANSKE

Pinhalzinho, 2018

GUILHERME AUGUSTO MANSKE

**QUALIDADE DO LEITE E INCIDÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NA
REGIÃO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração Propriedades e Segurança dos Alimentos, da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dra. Ana Luiza Bachmann Schogor.

Coorientadora: Dra. Elisandra Rigo.

**Pinhalzinho, SC
2018**

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

Manske, Guilherme Augusto

Qualidade do leite e incidência de leite
instável não ácido na região extremo oeste de Santa
Catarina / Guilherme Augusto Manske. - Chapecó ,
2018.

54 p.

Orientadora: Ana Luiza Bachmann Schogor

Co-orientadora: Elisandra Rigo

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado
de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do
Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Chapecó, 2018.

1. Análise rápida. 2. Bovinocultura de leite. 3.
Estabilidade da caseína. 4. Manejo de ordenha. 5.
Sistemas de produção. I. Schogor, Ana Luiza
Bachmann. II. Rigo, Elisandra. , .III.
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

Universidade do Estado de Santa Catarina
UDESC Oeste
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

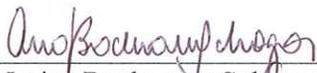
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

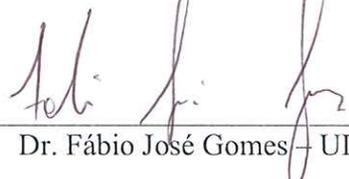
**QUALIDADE DO LEITE E INCIDÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NA
REGIÃO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA**

Elaborada por
Guilherme Augusto Manske

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Comissão Examinadora:


Dra. Ana Luiza Bachmann Schogor – UDESC


Dr. Fábio José Gomes – UDESC


Dr. Claiton André Zotti – UNOESC

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois seu folego de vida em mim me foi sustento e me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

Agradeço aos meus pais, Alberto e Vanderli. Obrigado pela confiança, pelo amor que me fortalece todos os dias e por não medir esforços na solução de problemas.

Agradeço a minha irmã, Bianca, por estar sempre presente ao meu lado, me ajudando de alguma forma.

Agradeço a Anymarie, por sempre estar do meu lado, pelo teu carinho, tua alegria, tua atenção, tua vibração com as minhas conquistas e teu ombro em cada momento difícil que você ajudou a atravessar.

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Ana Luiza Bachmann Schogor, sempre muito atenciosa aos esclarecimentos das minhas dúvidas, tendo paciência e transmitindo confiança, liberdade e dedicação. Obrigado pelo conhecimento e a sua amizade.

Agradeço a minha coorientadora, Profa. Dra. Elisandra Rigo, pelo apoio e conhecimento repassado durante este período.

Agradeço a todos os professores, técnicos, colegas e demais funcionários da UDESC, que de uma forma ou outra, contribuíram para mais esta conquista.

Agradeço ao Programa de Bolsas Universitárias de Santa Catarina (UNIEDU/FUMDES) pelo financiamento do mestrado através de bolsa de estudos.

Muito obrigado!!!

“Lealdade é uma via de mão dupla. Se eu estou pedindo isso a você, então você está recebendo isso de mim.”

Harvey Specter

“É fundamental diminuir a distância entre o que se diz e o que se faz, de tal forma que, num dado momento, a tua fala seja a tua prática.”

Paulo Freire

RESUMO

A bovinocultura de leite é um setor em amplo crescimento, que, na atualidade, necessita se adaptar as novas regras de produção de leite de qualidade impostas pelo mercado consumidor e pelas indústrias de alimentos. O objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento técnico sobre as principais características das propriedades rurais da região extremo oeste de Santa Catarina, identificar as variáveis que influenciam na qualidade do leite relacionada a ocorrência de leite instável não ácido e monitorar o comportamento dos resultados da estabilidade do leite frente a prova do álcool durante doze meses. Além disso, avaliar a qualidade e composição do leite produzido por estas propriedades e comparar duas metodologias de análise rápida de gordura, proteína e lactose do leite. Para o estudo foi realizado amostragem probabilística sistemática para obtenção de 45 UPL (unidades produtoras de leite). Foi possível identificar que se tratavam de pequenas propriedades rurais, de até 25 ha, baseado em mão-de-obra familiar, sendo que 91,1% utilizaram o sistema a pasto com suplementação. Da área total da propriedade, cerca de 50% foi utilizada para alimentação dos animais. A produção média por vaca foi de 16,6 litros/vaca/dia, com 23,6 vacas em lactação por rebanho. Com relação ao nível tecnológico das UPL, 48,9% tinham sistema totalmente canalizado e 22,2% semi-canalizado, com a maioria (66,7%) possuindo sala de ordenha para realização dos trabalhos. Além disso, observou-se baixa adesão de práticas que visam redução de casos de mastite na propriedade, como a utilização de pré-*dipping* (51,1%) e pós-*dipping* (82,2%), os testes da caneca de fundo preto (35,6%) e o CMT (73,3%). Na higienização dos equipamentos de ordenha a utilização de detergentes ácidos e alcalinos foi uma prática comum entre os produtores, 95,6% e 100%, respectivamente. A área total destinada a alimentação e a produção média diária por vaca tiveram influência significativa ($P < 0,05$) sobre a ocorrência de LINA. A correlação destas variáveis em função do “LINA acumulado” foi negativa e significativa ($\rho = -0,34$, $P = 0,02$ e $\rho = -0,48$, $P = 0,001$). A incidência de LINA na região foi de 24,4% no mês de setembro. A distribuição dos resultados da prova do álcool durante o ano evidenciou menor concentração necessária para causar a coagulação entre os meses de fevereiro e março, com diferença significativa ($P < 0,05$). No segundo experimento realizado, os resultados da comparação dos métodos de análise rápida do leite por meio de radiação infravermelha e ultrassom demonstraram que não houve diferença significativa para as médias de gordura ($P = 0,06$), entretanto, apresentaram diferença significativa para proteína ($P = 0,001$) e lactose ($P < 0,0001$). Houve correlação positiva e significativa para gordura ($r = 0,73$, $P < 0,0001$), proteína ($r = 0,47$, $P = 0,001$) e lactose ($r = 0,51$, $P = 0,0003$). Os resultados das análises do leite dos produtores, considerando composição, CBT e CCS, atenderam a legislação vigente em 95,5%, 84,1% e 64,4% dos produtores, respectivamente.

Palavras-chave: Análise rápida. Bovinocultura de leite. Estabilidade da caseína. Manejo de ordenha. Sistemas de produção.

ABSTRACT

The dairy chain is a growing sector which nowadays need to adapt the new rules imposed by the consumer market and the food industries, to the production of milk with quality. The objective of the present study was to perform a technical survey on the main characteristics of rural properties in the extreme western region of Santa Catarina, to identify the variables that influence milk quality related to the occurrence of non-acid unstable milk (LINA) and to monitor the behavior of stability results of the milk against the alcohol test for 12 months. In addition, to evaluate the quality and composition of milk produced by these properties and to compare two methodologies of rapid analysis of milk fat, protein and lactose. For the study, systematic probabilistic sampling was performed to obtain 45 UPL (milk producing units). It was possible to identify that they were small rural properties, up to 25 ha, based on family labor, and 91,1% used the pasture system with supplementation. Of the total area of the property, about 50% was used for feeding the animals. The average cow production was 16,6 liters/cow/day, with 23,6 cows in lactation per herd. Regarding the technological level of the UPL, 48,9% had a fully channeled system and 22,2% semi-canalized, with the majority (66,7%) having a milking room to perform the work. In addition, there was a low adherence of practices aimed at reducing cases of mastitis in the property, such as the use of pre-dipping (51,1%) and post-dipping (82,2%), test of the mug of black background (35,6%) and CMT (73,3%). In the hygiene of milking equipment, the use of acid and alkaline detergents was a common practice among producers, 95,6% and 100%, respectively. The total area for feeding and the average daily production per cow had a significant influence ($P < 0,05$) on the occurrence of LINA. The correlation of these variables as a function of the accumulated LINA was negative and significant ($\rho = -0,34$, $P = 0,02$ and $\rho = -0,48$, $P = 0,001$). The incidence of LINA in the region was 24,4% in the month of September. The distribution of alcohol test results during the year showed a lower concentration needed to cause coagulation between the months of February and March, with a significant difference ($P < 0,05$). In the second experiment, the results of the comparison of the methods of rapid analysis of the milk by means of infrared radiation and ultrasound showed that there was no significant difference for the means of fat ($P = 0,06$), however, they showed a significant difference for protein ($P = 0,001$) and lactose ($P < 0,0001$). There was a positive and significant correlation for fat ($r = 0,73$, $P < 0,0001$), protein ($r = 0,47$, $P = 0,001$) and lactose ($r = 0,51$, $P = 0,0003$). The results of the analyzes of the milk of the producers, considering composition, CBT and CCS, met the current legislation in 95,5%, 84,1% and 64,4% of the producers, respectively.

Keywords: Casein stability. Milk cattle. Milking management. Production systems. Rapid analysis.

SUMÁRIO

1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
1.1	PANORAMA DA PRODUÇÃO E ATIVIDADE LEITEIRA NO BRASIL E NO ESTADO DE SANTA CATARINA	9
1.2	QUALIDADE DO LEITE	10
1.3	COMPOSIÇÃO DO LEITE	11
1.3.1	Estrutura micelar.....	12
1.4	LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)	13
1.4.1	Composição química do LINA.....	13
1.4.2	Prevalência de LINA	14
1.4.3	Aspectos relacionados ao uso de LINA no processamento industrial.....	15
1.5	MÉTODOS DE ANÁLISE DE LEITE	17
1.5.1	Análises para identificação de LINA	17
1.5.1.1	<i>Prova do álcool.....</i>	18
1.5.1.2	<i>Teste de fervura</i>	19
1.5.1.3	<i>Acidez por pH</i>	19
1.5.1.4	<i>Acidez por Dornic</i>	20
1.5.2	Métodos para determinação da composição química do leite	20
2	OBJETIVOS.....	23
2.1	GERAL	23
2.1.1	Específicos.....	23
3	CARACTERIZAÇÃO E OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NAS UNIDADES PRODUTORAS DE LEITE DA REGIÃO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA	24
3.1	INTRODUÇÃO	24
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.2.1	Caracterização das unidades produtoras de leite (UPL)	25
3.2.2	Avaliação da incidência de leite LINA	26
3.2.3	Avaliação do comportamento da estabilidade da caseína frente ao teste do álcool durante o ano.....	26
3.2.4	Estatística.....	26
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.3.1	Caracterização das UPL.....	27
3.3.2	Ocorrência de leite instável não ácido e avaliação da estabilidade da caseína ao teste do álcool	31
3.4	CONCLUSÃO	37
4	A ANÁLISE POR RADIAÇÃO INFRAVERMELHA OU POR ULTRASSOM DO LEITE PODE AFETAR SEUS RESULTADOS?.....	38
4.1	INTRODUÇÃO	38
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.4	CONCLUSÃO	44
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
	REFERÊNCIAS	46

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A bovinocultura de leite tem um papel fundamental no desenvolvimento de diversas regiões do país. Este fato destaca a sua melhoria com o decorrer dos anos, com laticínios buscando cada vez mais uma matéria-prima de qualidade, afim de alcançar um produto com uma maior qualidade, e, conseqüentemente, uma maior vida de prateleira. A qualidade do leite apenas é alcançada quando produtores e laticínios trabalham em conjunto, desde a produção do leite pelo animal, correta realização da ordenha, até a recepção e processamento na indústria. Destaca-se, portanto, a necessidade de um trabalho em conjunto entre os elos da cadeia. Além disso, a utilização de métodos rápidos de análise e métodos confiáveis na seleção desta matéria-prima tem ganhado espaço na discussão entre empresas e produtores, pois o monitoramento constante é um controle necessário para a melhoria da qualidade do leite.

1.1 PANORAMA DA PRODUÇÃO E ATIVIDADE LEITEIRA NO BRASIL E NO ESTADO DE SANTA CATARINA

No Brasil, o setor agropecuário é responsável por 23% do produto interno bruto (PIB), mantendo nos últimos anos crescimento diante de um cenário de quedas em outros setores, o que demonstra sua importância para a economia do país (CNA, 2016). Entre os setores do agronegócio destaca-se a bovinocultura leiteira. O Brasil é um dos maiores produtores de leite do mundo, com produção anual de aproximadamente 34 bilhões de litros (IBGE, 2016). Neste sentido, a bovinocultura de leite tem sido uma das atividades do setor com grandes responsabilidades, por meio do desenvolvimento social e econômico de diversas regiões brasileiras.

No ano de 2016, a produção de leite no Brasil foi de 33,62 bilhões de litros, em que a região Sul possuía a maior representatividade deste total, com 37%, a qual apresentou crescimento contínuo desde o ano de 2000. A região também se destaca na produtividade, ocupando os três primeiros lugares no quesito produção/animal/ano: Rio Grande do Sul com 3.157 l/vaca/ano, Paraná com 2.916 l/vaca/ano e Santa Catarina com 2.787 l/vaca/ano (IBGE, 2016).

O oeste do estado de Santa Catarina é considerado uma bacia leiteira, com uma grande quantidade de produtores, figura-se entre as maiores mesorregiões produtoras de leite. Conforme a Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina (EPAGRI/CEPA, 2017), no ano de 2015 a região oeste correspondeu a 75,1% da produção, onde a microrregião de São Miguel do

Oeste (extremo oeste), correspondeu a 21,7% da produção total de leite do estado de Santa Catarina, justificando o destaque da região no setor de leite. Em termos de volume recebido pelas indústrias inspecionadas no estado, entre 2015 e 2016 Santa Catarina teve crescimento de 3,8%, o inverso do que houve na maioria dos estados e no país, e desta forma, alcançou a marca de 10,5% na participação da oferta de leite às indústrias brasileiras, superando pela primeira vez o estado de Goiás.

Desta forma, o agronegócio se destaca por ser altamente relevante no contexto econômico, social e ambiental brasileiro, onde a área de leites ainda apresenta grande distinção entre produtores, ou seja, encontram-se fazendas pequenas com mão-de-obra familiar e pequenas cooperativas, até grandes fazendas, com instalações mecanizadas e alto nível tecnológico (WILLERS et al., 2014).

1.2 QUALIDADE DO LEITE

Em tempos passados, a grande preocupação do produtor de leite era a produção em quantidade, com pouca importância para a qualidade. Isso tem mudado devido ao intenso desenvolvimento do setor, apresentando como desafio marcante a busca pela adaptação à realidade do mercado, o que engloba a produção de leite com qualidade, incluindo a concentração de seus componentes (THALER NETO, 2006).

Com consumidores cada vez mais criteriosos na escolha de produtos, as empresas do ramo alimentício têm se adaptado às condições impostas pelo mercado, buscando cada vez mais aliar qualidade com custo baixo de produção. Desta forma, é necessário que produtores e técnicos melhorem o processo de obtenção do leite, compreendendo desde a nutrição até a práticas de higiene de ordenha, pois muitas propriedades ainda apresentam gestão ineficiente, produzindo um leite de baixa qualidade (WERNCKE et al., 2016).

Os marcos regulatórios para a qualidade do leite no Brasil foram a implementação da Instrução Normativa nº 51, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2002), que oficializou a implantação de um programa para controlar e padronizar a identidade e qualidade do leite, que visa, desta forma, atingir parâmetros de qualidade cada vez melhores. Esta foi alterada pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011), atualizando os tipos de leite e a instituição do pagamento do leite por qualidade ao produtor. Em 2016 também houve alteração da IN 62, mediante a Instrução Normativa nº 7, que estabeleceu novos prazos para adequação dos produtores com relação à Contagem Bacteriana Total (CBT) e Contagem de Células Somáticas (CCS) (BRASIL, 2016). Atualmente o leite é definido por meio do

Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), como o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas saudas, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2017).

Os requisitos mínimos para aceitação do leite nas indústrias são 3% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato desengordurado, densidade relativa a 15°C de 1,028 a 1,034 g/ml, acidez titulável de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico/100ml, índice crioscópico -0,530°H a -0,550°H e ser estável ao álcool/alizarol a 72% (BRASIL, 2011). Além destes, também são estabelecidos parâmetros mínimos para Contagem Bacteriana Total e Contagem de Células Somáticas de 300.000 UFC/mL e 500.000 CS/mL, respectivamente (BRASIL, 2016).

1.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE

O leite é considerado um produto com composição equilibrada de nutrientes, que resulta em elevado valor biológico, importante para o desenvolvimento e crescimento dos mamíferos (TRONCO, 2010). O leite de vaca é o mais consumido e processado em todo o mundo. Sua composição é altamente variável, sendo influenciada por vários fatores, como raça, indivíduo, estágio de lactação, ordem de parição, manejo, nutrição, estado de saúde da vaca, variação durante a ordenha, dentre outros (ABREU, 2005).

Conforme González (2001) o leite é caracterizado como uma emulsão de glóbulos de gordura e uma suspensão de micelas de caseína, que estão suspensas em uma fase aquosa (Tabela 1). Nesta fase aquosa encontram-se solubilizados moléculas de lactose, proteínas do soro e minerais.

Tabela 1. Composição média do leite das diferentes raças bovinas.

Raça	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Cinzas (%)	Sólidos totais (%)
Holandesa	3,5	3,1	4,9	0,7	12,2
Jersey	5,5	3,9	4,9	0,7	15,0
Parda Suíça	4,0	3,6	5,0	0,7	13,3
Ayrshire	4,1	3,6	4,7	0,7	13,1
Guernsey	5,0	3,8	4,9	0,7	14,4
Zebuínas	4,9	3,9	5,1	0,8	14,7

Fonte: adaptado de González (2001) e Machado (2010).

1.3.1 Estrutura micelar

Dentre outros parâmetros, a estabilidade do leite é de suma importância para a indústria laticinista e está vinculada a estrutura micelar da caseína, sendo que essa estruturação mantém uma força de repulsão o que é determinado como estabilidade (MACHADO, 2010).

As proteínas do leite podem ser divididas em duas grandes classes, as caseínas e as proteínas do soro, com percentual de 80% e 20%, respectivamente (BELOTI, 2015). As caseínas são as que possuem maior importância para a indústria (SGARBIERI, 2005), sendo classificadas em quatro subgrupos principais, α_{s1} , α_{s2} , β e κ . Essas caseínas são um grupo de fosfoproteínas que se encontram no leite em forma de micelas, nas proporções aproximadas de 4:1:3,5:1,5 (DALGLEISH, 2011). Essas micelas são compostas por 93% de caseínas e o restante, 7%, por cálcio inorgânico (2,87%), fosfato (2,89%), citrato (0,4%) e pequenas quantidades de magnésio, sódio e potássio (SGARBIERI, 2005). Essas caseínas possuem sequências fosforiladas, pelas quais podem interagir com fosfato de cálcio, o que a torna capaz de sequestrar fosfato de cálcio, formando minúsculos agrupamentos de íons circundados por uma camada de proteína (HOLT, 2004).

Ainda existem algumas dúvidas referentes a conformação exata das micelas de caseína, porém, a estrutura que mais ganha suporte é a proposta por Walstra (1990), que apresenta a micela essencialmente esférica, contudo, não lisa, formada por unidades menores, denominadas de submicelas, que são ligadas por aglomerados (clusters) de fosfato de cálcio, dessa forma, as submicelas se agregam até a formação completa da micela, com predominância de α_{s1} , α_{s2} e β -caseína na porção interna, e a κ -caseína se posiciona na superfície. Essa κ caseína projeta a porção C-terminal (glicopeptídeo) para fora da superfície, criando uma camada esponjosa que previne, por repulsão eletrostática, qualquer agregação posterior de submicelas.

Essa micela de caseína é classificada como anfótera, ou seja, possui grupamentos ácidos (COOH) e básicos (NH₃), com uma predominância de ácidos sobre os amino, portanto, a carga resultante é negativa, o que gera uma repulsão entre as micelas, impedindo a agregação das mesmas (BELOTI, 2015). Outra característica importante da caseína, é a sua atividade anfipática, pois possui regiões hidrofóbicas e hidrofílicas, o que na conformação das micelas expõem consideravelmente as regiões hidrofílicas e, desta forma, resulta em forte associação entre as caseínas e as tornam insolúveis em água (DALGLEISH, 2011).

Devido a sua importância, o interesse por estudos da caseína micelar se mantém constantes ao longo dos anos, uma vez que muitas propriedades tecnologicamente importantes

do leite, como a cor branca, a estabilidade ao calor, ao etanol e a coagulação pelo coalho é devido às propriedades das micelas de caseína (FOX; BRODKORB, 2008).

1.4 LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)

Entre os desafios encontrados atualmente na conjuntura da bovinocultura leiteira, podemos citar o aparecimento do leite que reage positivamente à prova do álcool, sem apresentar acidez elevada, que ainda busca por respostas e é amplamente estudado em várias regiões do país. De modo geral, é um dos problemas vivenciados com alguma frequência nos rebanhos leiteiros e quando encontrado no sistema de produção, resulta em prejuízos, uma vez que o leite é rejeitado ou subvalorizado pela indústria, mesmo que este apresente níveis de acidez considerados normais, estando apto para ser processado (MARQUES et al., 2007; ROMA JUNIOR et al., 2009). Este tipo de alteração recebeu diferentes denominações de acordo com o local onde foi estudado, como por exemplo, Leite Instável Não Ácido (LINA) (ZANELA, 2004; OLIVEIRA et al., 2007) e Síndrome do Leite Anormal (SILA) (PONCE CEBALLO; HERNÁNDEZ, 2001).

O LINA é evidenciado na prova do álcool, apresentando coagulação positiva, ocorrendo desestabilização da estrutura micelar à determinada graduação, sem possuir acidez elevada (ZANELA et al., 2006), o que é associado a alterações na estabilidade das caseínas, às propriedades físico-químicas do leite, como o equilíbrio salino, e a proporção de cátions bivalentes (CHAVEZ et al., 2004). As possíveis causas destas alterações são multifatoriais e ainda não são totalmente esclarecidas, como o estágio de lactação (MARQUES et al., 2010a), desequilíbrios nutricionais (ZANELA et al., 2006; ABREU, 2008; MARQUES et al., 2010b; BARBOSA et al., 2012; STUMPF et al., 2016), alterações metabólicas (MARQUES et al., 2011; MARTINS et al., 2015) e genéticas (ZANELA et al., 2006).

1.4.1 Composição química do LINA

A composição do leite é fundamental para a fabricação de derivados lácteos, e afeta diretamente o valor nutricional dos alimentos produzidos (ZANELA et al., 2015). Em termos de composição química do leite caracterizado como instável não ácido, ainda existem controversas entre autores, embora seja destacado que a variação que apresenta é de pequena magnitude (FISCHER et al., 2012).

No estudo realizado por Marques et al (2007), na região sul do Rio Grande do Sul, foi avaliado as diferenças químicas entre leite instável não ácido a 76% de graduação alcoólica, em 8.830 amostras, das quais 10% foram enviadas ao laboratório credenciado ao MAPA para determinação química. No estudo, encontrou-se diferença significativa ($P < 0,05$) para proteína e lactose, com diminuição da concentração, e para gordura, com aumento da concentração. Enquanto que, na região noroeste do mesmo estado, onde foram analisadas 2.205 amostras para composição química, não houve variação significativa ($P > 0,05$) para gordura entre o leite normal e o LINA (76%), porém, para proteína, lactose, sólidos totais e sólidos desengordurados foram encontradas variações significativas ($P < 0,05$), com concentrações inferiores no LINA (ZANELA et al., 2009).

Abreu (2008) avaliou a composição química dos animais em uma propriedade rural no extremo oeste de SC, onde foram realizados o ajuste de dieta para 8 vacas da raça Jersey, de acordo com NRC (2001), e outro grupo de 8 animais da mesma raça mantidos sob a alimentação que a propriedade utilizava. Não houve diferença estatística ($P > 0,10$) de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado, entre LINA e leite considerado normal.

Em todos os estudos relatados acima, nenhum aponta valores dos constituintes do LINA fora dos padrões exigidos pela legislação (IN 62) e, portanto, não há justificativa para a rejeição do leite pela indústria ou a própria penalização dos produtores (MARQUES et al., 2007). Somado a isso, não há garantias de que as mudanças encontradas nas amostras de leite utilizadas nos estudos sejam relacionadas ao LINA, pois são inúmeros os fatores relacionados que têm poder de interferência, como o período do ano, clima, produção leiteira, alimentação de baixa qualidade nutricional, uso de concentrados de forma desbalanceada, mastite, raça, idade, características individuais, estágio de lactação, saúde do animal, período do cio, espaço entre ordenhas, entre outros fatores, que podem interferir na composição do leite (OLIVEIRA et al., 2011).

1.4.2 Prevalência de LINA

Alterações na estabilidade do leite na prova do álcool têm sido relatado em vários estados do Brasil, como no Rio Grande do Sul, com resultados positivos para LINA em 44,1% das amostras avaliadas (MARQUES et al., 2007), 55,2% (ZANELA et al., 2009), em São Paulo, 64,8% (OLIVEIRA et al., 2011), no Paraná, 33% (MARX et al., 2011), em Santa Catarina, 29,03% (WERNCKE, 2012), e no Rio Grande do Norte, 15,91% (FARIA, 2015).

Alguns autores avaliaram a influência da nutrição sobre a prevalência de LINA, em que Zanela et al. (2006) induziram a restrição alimentar de 40%, atendendo, portanto, apenas 60% das exigências nutricionais dos animais. Houve aumento significativo ($P < 0,05$) na incidência de LINA quando os animais estiveram sob restrição alimentar. Outro experimento realizado por Marques et al. (2010b) também avaliou o fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey, e avaliaram seus efeitos sobre a instabilidade do leite, determinando que o leite das vacas que receberam altos níveis de energia e proteína foi mais estável na prova do álcool do que o leite produzido pelos demais grupos avaliados, com baixa energia e proteína, e apenas com baixa energia e alta proteína.

Stumpf et al. (2016) buscaram correlacionar os comportamentos das vacas mais propensas a apresentar leite com reduzida estabilidade ao álcool durante restrição alimentar. Houve redução na estabilidade ao álcool nos animais submetidos à restrição alimentar, assim como também, houve aumento nas estereotípias, interações agonísticas, vocalizações e também permaneceram mais tempo em pé. Outros pontos avaliados pelos autores foram os níveis de cortisol e lactose plasmática, em que ambos apresentaram aumento no grupo de animais sob restrição alimentar. A lactose plasmática é considerada um parâmetro confiável para determinação da permeabilidade das *tight junctions* (STELWAGEN et al., 2000), tendo relação direta com a diminuição da estabilidade ao álcool (STUMPF et al., 2013). As *tight junctions* (junções apertadas) são encontradas em células epiteliais e endoteliais, sua função é restringir o transporte paracelular (STELWAGEN et al., 2000). Na glândula mamária seu papel é importante na manutenção da síntese do leite e da qualidade do leite, pois evita a passagem de componentes do soro no leite e a perda de componentes do leite para o soro (STELWAGEN et al., 1997).

1.4.3 Aspectos relacionados ao uso de LINA no processamento industrial

De modo geral, as indústrias de laticínios, na expectativa obterem leite de melhor qualidade e mais estáveis, tendem a aumentar as concentrações utilizadas no teste de álcool, e por consequência, aumenta também o número de amostras positivas para LINA, as quais são consideradas inadequadas para o processamento industrial (SILVA et al., 2012). Ou seja, a indústria utiliza a prova do álcool como fator de decisão para aceitação ou rejeição do leite, o que tem levado ao descarte desnecessário do leite e prejuízos tanto para a indústria quanto para o produtor (MARQUES et al., 2007; WERNCKE, 2012). Conforme Machado (2010), a

indústria deveria reavaliar a utilização da prova do álcool, pois esta metodologia expressa resultados importantes para a destinação da matéria prima.

A indústria beneficiadora de leite ainda resente a utilização do LINA, tendo em vista que este tipo de leite pode apresentar menores teores de lactose, proteína e em algumas situações gordura, o que, por consequência, pode ocasionar em menor rendimento na confecção de lácteos (FISCHER et al., 2011). Poucos estudos sobre rendimento deste tipo de leite são encontrados na literatura, o que justifica necessidade de pesquisas mais aprofundadas dentro do processamento industrial.

Quando a indústria utiliza leite com uma caseína instável, o aumento da temperatura durante o processamento térmico pode promover a coagulação do leite, o que gera transtornos para a indústria (SILVA et al., 2012), como a deposição de proteínas nos equipamentos, o que ocasionam maior número de interrupções do funcionamento para limpeza dos mesmos, o que não inviabiliza o processamento, mas gera dificuldades e aumento de custos (MARQUES et al., 2007). Porém, conforme Molina et al. (2001), a correlação entre o aumento da graduação alcoólica e o aumento na resistência térmica, contudo, não é verdadeira. O mesmo autor também estabeleceu que com concentração de 75% de etanol foram obtidos valores de estabilidade térmica de 60 a 70 segundos a 135°C, considerado tempo e temperatura suficientes para aguentar o tratamento UHT, não havendo razões para a utilização de concentrações ainda mais elevadas.

As alterações bioquímicas do LINA também estão associadas à gelatinização do leite UHT, um dos principais problemas que afetam este produto (NORNBERG et al., 2009), que é um dos lácteos mais consumidos, tendo em vista a praticidade de conservação, de uso e também ao longo período de vida comercial (MARTINS et al., 2008). Porém, faltam estudos relacionados ao assunto e que avaliem, além da influência do LINA, as alterações enzimáticas pós processamento térmico.

Há poucos estudos na literatura sobre a utilização do LINA no processamento industrial. Embora a utilização deste possa acarretar menor rendimento (FISCHER et al., 2012), quando testado o seu uso, não houve alterações no tempo de fermentação, pH e viscosidade do iogurte batido elaborado com leite de vacas da raça Jersey com resultado positivo e negativo a prova do álcool a 76% (RIBEIRO et al., 2006). Abreu (2015) também não obteve alteração na composição físico-química e no rendimento do queijo prato quando utilizada diferentes graduações alcoólicas, de 72, 76 e >78%. Costabel (2009) também não encontrou mudanças no rendimento industrial e diferenças significativas ($P>0,05$) na fabricação de queijo utilizando amostras negativas e positivas no teste do álcool a 72% e 80%. Porém, Ponce Ceballo e Aguilera

(2009) relataram a ocorrência de alterações na fabricação de derivados lácteos, como a redução no rendimento, aumento no tempo de coagulação, surgimento de características indesejáveis no coágulo, alta retenção de água e perda de proteínas. O aumento no tempo de coagulação também foi relatado por Barbosa et al. (2006), quando comparou a utilização de LINA e leite normal para elaboração de queijo minas frescal.

Embora a literatura sobre o impacto do LINA no processamento industrial seja escassa, há indicativos de que este tipo de leite possa ser utilizado pela indústria na elaboração de derivados lácteos, pois não apresenta problemas de saúde pública (WERNCKE, 2012).

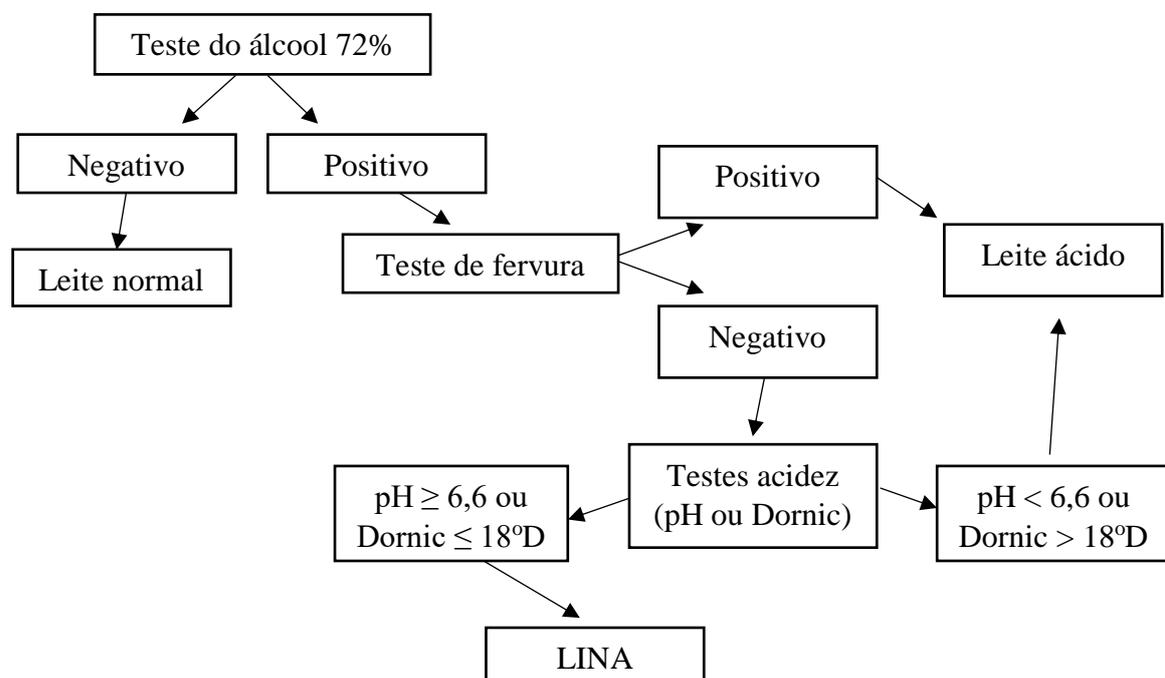
1.5 MÉTODOS DE ANÁLISE DE LEITE

A seguir são descritos alguns dos métodos de análise de leite para identificação de LINA e de controle físico-química na indústria beneficiadora de leite.

1.5.1 Análises para identificação de LINA

O fluxograma para o diagnóstico de leite instável não ácido é descrito a seguir:

Figura 1 - Fluxograma de análises para diagnóstico de LINA.



1.5.1.1 Prova do álcool

Entre os diversos testes utilizados para avaliar a qualidade do leite, um dos mais utilizados é a prova do álcool, realizada na propriedade rural antes do carregamento e também na plataforma de recepção na indústria. A prova é responsável por avaliar a estabilidade das proteínas lácteas, que são submetidas à desidratação provocada pelo álcool e é utilizada para estimar a estabilidade do leite quando submetido ao tratamento térmico (MARQUES et al., 2007). Na prova do álcool, o etanol reduz a estabilidade coloidal da micela de caseína e provoca coagulação dessa fração proteica (O'CONNELL et al., 2001), e conseqüentemente, quanto maior for a concentração de álcool utilizada no teste, menor será a estabilidade da caseína (SILVA et al., 2012). A prova do álcool, portanto, tem como finalidade pré-determinar se a estabilidade térmica do leite é suficiente para suportar o processo de pasteurização. As proteínas têm sua estabilidade máxima quando a temperatura, o pH e o equilíbrio eletrostático estão em seus pontos ótimos, tendendo a precipitar ou coagular quando um ou mais destes fatores estão alterados e esta tendência é detectada pela prova do álcool (BELOTI, 2015).

Devido as características da região, com pequenas propriedades rurais (COSTA et al., 2013), é grande o número de produtores fornecedores em cada linha de recolhimento, além de também, ter grande variação da qualidade do leite entre produtores. Conseqüentemente, a indústria necessita de uma avaliação rápida, de baixo custo e que seja confiável, visando a aceitação e a melhor destinação da matéria-prima obtida. A prova do álcool tem sido então empregada pela indústria para este critério, onde o teste é utilizado para estimar a estabilidade térmica do leite, sendo algumas vezes erroneamente interpretado como leite ácido em casos de coagulação positiva (FISCHER et al., 2012), pois oscilações/alterações em alguns componentes lácteos, como o balanço salino, lactose, ureia e cálcio livre podem estar relacionadas à estabilidade alcoólica. Devido a isso, outras variáveis, além da acidez de origem microbiológica, influenciam na prova do álcool, podendo haver descarte desnecessário de leite cru, no momento da sua coleta na propriedade rural ou então, na plataforma de recebimento da indústria (FAGNANI et al., 2016).

A prova do álcool em conjunto com a acidez Dornic ou ao pH é utilizado para identificar o leite instável não ácido, que é caracterizado como um conjunto de alterações em que a matéria prima apresenta uma acidez e pH dentro dos padrões normais, contagens bacterianas adequadas, mas ainda assim, reagem positivamente em relação ao teste do álcool (MARQUES et al., 2007).

Pelo fato do teste do álcool ter sido escolhido para estimar a estabilidade térmica do leite, a associação de testes para identificação desta resistência térmica é comprovada em

estudo, julgando necessário a associação de testes como a titulação do ácido láctico, mensuração de pH e teste da fervura (FAGNANI et al., 2016).

O uso de métodos de baixo custo e que sejam confiáveis na avaliação do leite cru, tanto na propriedade quanto na plataforma de recebimento, são necessários devido ao grande número de produtores em cada linha de coleta, assim como também da ampla variação na qualidade desse produto. A indústria necessita conhecer a estabilidade térmica do leite recebido na plataforma, pois possibilita o destino correto, sem causar prejuízos ao processamento (FISCHER et al., 2012).

1.5.1.2 Teste de fervura

O teste de fervura também é utilizado como parte do diagrama para identificação do LINA. O teste é baseado no princípio de que quando a acidez do leite é elevada, há precipitação das proteínas do leite pelo aquecimento (BRASIL, 2006). Com o resultado positivo neste teste, descarta-se a possibilidade de a amostra ser LINA, e quando negativo, deve-se proceder o teste de acidez por Dornic ou determinação de pH da amostra.

1.5.1.3 Acidez por pH

A acidez é um dos parâmetros mais importantes na inspeção industrial e sanitária do leite e derivados, podendo ser avaliada em dois aspectos: a acidez atual ou aparente, que corresponde ao pH e acidez real ou titulável, que também é conhecida como acidez ponderal e pode ser determinada pelo processo de Dornic (TRONCO, 2010). A metodologia de referência para a determinação do pH é por meio do uso de aparelhos potenciômetros. Estes aparelhos são especialmente adaptados, o que permite que a determinação seja direta, simples e precisa do pH (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Conforme Tronco (2010), a acidez atual normal do leite corresponde ao pH com valores médios de 6,6 a 6,8. Além dos equipamentos potenciométricos, o pH também pode ser determinado por colorimetria por meio da prova do alizarol, amplamente utilizado pela indústria, combinado com a prova do álcool, na coleta da matéria prima diretamente na propriedade rural, permitindo desta forma, observar simultaneamente a floculação da caseína e a viragem da cor devido a mudança de pH.

1.5.1.4 Acidez por Dornic

A acidez é a medida capaz de avaliar o equilíbrio ácido/base, sendo que o leite é um composto levemente ácido, em virtude dos fosfatos inorgânicos, caseína, proteínas do soro, gás carbônico e os ácidos formados através da decomposição da lactose (ÓRDOÑEZ et al., 2005). Para identificação e caracterização do LINA, a acidez assume importante papel, já que deve apresentar-se dentro dos parâmetros normais, por meio de acidez titulável de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico por 100 mL (BRASIL, 2017). O método mais utilizado conforme legislação vigente é pela titulação de solução Dornic, devendo apresentar entre 14 e 18°D (BRASIL, 2006).

1.5.2 Métodos para determinação da composição química do leite

Entre os métodos para determinação da composição química pode-se citar os oficiais (BRASIL, 2006), que são onerosos, pois envolvem a utilização de reagentes caros, mão-de-obra especializada e maior tempo por análise (VENTUROSOSO et al., 2007). Os principais são o método de Gerber, para análise de gordura, o método Kjeldahl, para proteína, utilização do termolactodensímetro de Quevenne, para densidade, utilização de estufa a $102 \pm 2^\circ\text{C}$ até peso constante, para determinação do extrato seco total (BRASIL, 2006).

Com o crescente número de amostras a serem analisadas nos estabelecimentos de leite, assim como, o aumento da frequência das análises visando amplo controle de qualidade, torna-se necessária a utilização de métodos analíticos rápidos e seguros. Dentro deste contexto, os analisadores automatizados têm sido utilizados dentro das indústrias beneficiadoras de leite (PONSANO et al., 2007; ROBIM et al., 2012). Atualmente no mercado, encontram-se os analisadores automatizados que utilizam o princípio da espectroscopia por infravermelho ou por ultrassom.

O método por espectroscopia por infravermelho é utilizado pelos laboratórios oficiais da Rede Brasileira de Laboratórios para Controle da Qualidade do Leite (RBQL), por meio dos equipamentos da marca Bentley (Bentley Instruments Incorporated®, Chaska, Estados Unidos da América). A região de infravermelho é a faixa que varia de 0,78 μm a 300 μm do espectro infravermelho, sendo dividida em três regiões, de acordo com o comprimento de onda ou o número de ondas da radiação: o NIR (*near-infrared*), faixa entre 0,7 μm e 2,5 μm ; o MIR (*mid-infrared*), que abrange a faixa entre 2,5 μm e 25 μm ; e o FIR (*far-infrared*), que compreende a faixa entre 25 μm a 100 μm (LEITE, 2006). O princípio deste método está relacionado a lei de Beer-Lambert, que estabelece que a porcentagem de cada constituinte é relacionada com a

quantidade de energia absorvida, ou seja, a absorvância da luz por uma solução em uma determinada espessura é diretamente proporcional a concentração de um componente. Desta forma, uma molécula apenas é capaz de absorver a radiação infravermelha quando apresentar a mesma frequência de vibração desta radiação, identificando os grupos químicos específicos de alguns componentes do leite, como a gordura, proteína e lactose (BIGGS, 1987).

Apesar dos equipamentos baseados no método por infravermelho serem os mais utilizados nos laboratórios oficiais do Brasil e do mundo, ainda apresentam elevado custo de aquisição, limitando a sua compra em outros laboratórios, tanto nos estabelecimentos beneficiadores, quanto diretamente nas propriedades rurais. Destaca-se como alternativa ao alto custo da técnica por infravermelho, o método de espectroscopia por ultrassom para determinação físico-química do leite (MENEGON, 2016).

Ultimamente os equipamentos baseados na espectroscopia por ultrassom têm sido utilizados na indústria para a análise de alimentos (VENTUROSOSO et al., 2007). Esta tecnologia ultrassônica é baseada no princípio de que a matéria é capaz de absorver o som, atenuando-o ou influenciando em sua velocidade, ou seja, o movimento de qualquer onda é afetado pelo meio por onde se propaga, o que permite estabelecer associação com a composição física e química (BUCKIN et al., 2003; DUKHIN et al., 2003; PONSANO et al., 2007). Sendo assim, a propagação destas ondas sonoras ultrassônicas em um determinado meio fornece informações sobre a matéria pela análise da transmissão ou da reflexão dos sinais gerados (BHARDWAJ, 2002).

O uso de métodos indiretos de análise fornece resultados percentuais dos constituintes, mediante a determinação de parâmetros individuais, de acordo com cada técnica (LEITE, 2006). O melhoramento das tecnologias utilizadas pelos equipamentos eletrônicos, juntamente com as vantagens de serem métodos rápidos e não destrutivos da qualidade e composição (BUCKIN et al., 2003; AERNOOTS et al., 2011) favorecem a sua utilização e cumprem com a demanda necessária por parte da indústria láctea.

Estudos sobre a comparação e a correlação entre as metodologias por infravermelho e ultrassom são escassas na literatura. Pinto et al. (2008) realizaram a comparação e correlação entre os métodos e encontraram diferença significativa ($P < 0,05$) entre os teores de gordura e sólidos desengordurados, embora não tenham encontrado diferença para o teor de proteína. A correlação entre os métodos foi positiva e significativa ($P < 0,05$) para todos os parâmetros avaliados, o que demonstrou que a técnica por ultrassom pode ser utilizada como método para realização de análises de concentração de componentes. Os autores atribuíram a diferença significativa encontrada para gordura e sólidos desengordurados à diferença de calibração entre

os métodos. Por outro lado, a comparação entre os métodos oficiais e os métodos rápidos de análises podem ser encontrados na literatura com maior frequência, tanto para validar a técnica de ultrassom (VENTUROSOSO et al., 2007; PONSANTO et al., 2007; ROBIM et al., 2012), como para a técnica por infravermelho (SILVEIRA et al., 2004).

2 OBJETIVOS

A seguir são apresentados os objetivos que nortearam a pesquisa na área de bovinocultura e qualidade de leite na região extremo oeste de Santa Catarina.

2.1 GERAL

Caracterizar as unidades produtoras de leite (UPL) da região extremo oeste de Santa Catarina, e buscar indicadores para a melhoria da qualidade do leite disponibilizado aos laticínios, pela estrutura (área, tamanho de rebanho, edificações, volume de produção), alimentação, manejo e higiene de ordenha em relação a estabilidade do leite frente ao teste do álcool, avaliando os fatores que influenciam na ocorrência de LINA durante o ano. Ainda, comparar duas metodologias de análise rápida da composição e qualidade do leite das referidas propriedades.

2.1.1 Específicos

1. Realizar levantamento técnico sobre unidades produtoras de leite da região extremo oeste de Santa Catarina;
2. Avaliar a qualidade e a composição físico-química do leite das UPL;
3. Comparar e correlacionar duas metodologias de análise rápida da composição do leite, baseadas em espectroscopia por ultrassom e por radiação infravermelha;
4. Avaliar quais as variáveis, relacionadas as características das UPL, que possuem influência sobre a ocorrência de Leite Instável Não Ácido.
5. Avaliar a estabilidade do leite frente ao teste do álcool das UPL amostradas durante o período de um ano, de forma quinzenal.
6. Desenvolver recomendações técnicas sobre a prevenção da ocorrência de LINA baseado nos resultados da pesquisa, visando aumentar a disponibilidade de leite de qualidade para as unidades beneficiadoras.

3 CARACTERIZAÇÃO E OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO NAS UNIDADES PRODUTORAS DE LEITE DA REGIÃO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA

A obtenção de um leite de qualidade depende de vários fatores, tanto dentro da indústria beneficiadora, quanto no transporte e dentro da propriedade leiteira. Estes fatores, relacionados a qualidade da matéria-prima são abordados nesta etapa da dissertação, com o intuito de avaliar as possíveis causas do Leite Instável Não Ácido (LINA) e propor soluções a respeito do tema. Outro aspecto discutido, é sobre a concentração de álcool ideal necessária a ser utilizada pelo laticínio para obter uma matéria prima com melhor estabilidade da caseína frente a prova do álcool, e o comportamento dos resultados deste teste durante o decorrer do ano, para avaliar e analisar as épocas em que a concentração necessária para causar a coagulação é mais baixa, e propor possíveis práticas que busquem melhorar este parâmetro.

3.1 INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro é altamente relevante no contexto econômico, social e ambiental do país. Neste contexto, a bovinocultura de leite figura com ampla participação, porém ainda apresenta grande distinção entre seus produtores, ou seja, encontram-se fazendas pequenas com mão de obra familiar e pequenas cooperativas, até grandes fazendas, com instalações mecanizadas e alto nível tecnológico (WILLERS et al., 2014). Conforme Bodenmüller Filho et al. (2010) é de suma importância conhecer e identificar as características das unidades produtoras de leite (UPL) quanto a produção, técnicas de manejo, entre outras informações. O conhecimento destas informações auxilia no direcionamento da assistência prestada por técnicos, afim de alcançar o aconselhamento específico para a melhoria da produção, obtenção e da qualidade do leite produzido a ser industrializado nos laticínios. A busca por estas melhorias, e, entre outras, é de fundamental importância para que o Brasil possa se tornar mais competitivo no mercado internacional (WERNCKE et al., 2016).

A região sul se destaca na produção de leite no país, pois figura-se como a maior produtora do país, que no ano de 2016, representou 37% do total de 33,62 bilhões de litros de leite produzidos (IBGE, 2016). No estado de Santa Catarina, a produção de leite configura, em muitas propriedades, como a primeira ou segunda atividade de maior geração de renda para as famílias (MARCONDES, 2005), o que destaca a importância da atividade para o desenvolvimento social e econômico. A bacia leiteira do extremo oeste catarinense, por ser uma

região com grande número de produtores, demonstra a necessidade e a oportunidade de estudos sobre a atividade na região, com objetivo de avaliar e caracterizar estas propriedades rurais para servir de parâmetro aos técnicos ligados ao desenvolvimento do setor na região e de indicadores de qualidade para as indústrias processadoras.

Além disso, a bovinocultura leiteira enfrenta vários desafios, entre eles, a ocorrência de leite instável não ácido (LINA), que é a instabilidade da caseína em leites que não apresentam acidez elevada, evidenciado na prova do álcool, em que apresenta coagulação positiva a determinada concentração alcoólica (ZANELA et al., 2006), sendo este um desafio que envolve tanto o produtor quanto a indústria beneficiadora. De modo geral, é um dos problemas vivenciados com alguma frequência nos rebanhos leiteiros, e quando encontrado no sistema de produção, acaba causando significativos prejuízos, uma vez que o leite é rejeitado ou subvalorizado pela indústria, mesmo que este apresente níveis de acidez considerados normais, estando apto para ser processado (MARQUES et al., 2007; ROMA JUNIOR et al., 2009). Fato este que eleva a preocupação em se conhecer a real incidência de LINA na região e avaliar as possíveis características das propriedades que influenciam a sua ocorrência. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi primeiramente, caracterizar as propriedades rurais produtoras de leite da região extremo oeste catarinense, e correlacionar essas características com a ocorrência de LINA. Ainda, monitorar e avaliar os resultados da estabilidade da caseína frente ao teste do álcool na mesma região, nas diferentes estações do ano, buscando estabelecer indicadores de melhoria da qualidade.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir são apresentados os materiais e métodos empregados na pesquisa.

3.2.1 Caracterização das unidades produtoras de leite (UPL)

O estudo foi realizado na região extremo oeste de Santa Catarina. Para avaliação das características das propriedades da região, incidência de LINA e monitoramento da estabilidade da caseína frente ao teste do álcool, foi realizada uma amostragem probabilística sistemática (como definido por Freitas et al., 2000) em que foram selecionadas 45 unidades produtoras de leite (UPL), todas fornecedoras de leite para um mesmo laticínio, distribuídos em quatro municípios. As informações referentes às características das UPL foram obtidas por meio de um levantamento técnico via laticínio sobre a estrutura geral propriedade, rebanho, manejo,

sistema e higienização da ordenha, além das questões relacionadas à alimentação dos animais, entre os meses de agosto a dezembro de 2016. Nenhum produtor teve sua identidade revelada durante a realização da pesquisa.

3.2.2 Avaliação da incidência de leite LINA

Para avaliar a incidência de LINA na região, amostras de 300 ml de leite cru foram colhidas em frasco estéril por funcionário treinado do laticínio, diretamente do tanque de resfriamento de leite após homogeneização. Estas amostras permaneceram em temperatura de refrigeração (7°C) até o momento das análises no laboratório do laticínio. Foram realizados o teste do álcool, conforme descrito por Tronco (2010), nas concentrações de 72 a 80% em intervalos de 2%, o teste de fervura, por meio do aquecimento de 30 ml de leite em tubo de ensaio com agitação constante (BRASIL, 2006), o teste de acidez titulável por Dornic (BRASIL, 2006) e a determinação de pH por meio de potenciômetro de bancada (AKSO®).

3.2.3 Avaliação do comportamento da estabilidade da caseína frente ao teste do álcool durante o ano

Para o levantamento da distribuição anual da estabilidade da caseína frente ao álcool, as UPL foram monitoradas de forma quinzenal, durante o período de agosto de 2016 a julho de 2017, com intuito de avaliar a concentração de álcool necessária para causar a coagulação. Foram avaliadas as concentrações de 72 a 78%, em intervalos de 2%. As amostras negativas a 78%, foram consideradas positivas para 80%. O levantamento deste dado teve como intuito avaliar a resposta sobre a estabilidade da caseína frente a ação do álcool, a qual é utilizada, em conjunto com a acidez, pH e teste de fervura, no diagnóstico de LINA.

Com relação a avaliação ao longo do ano, ressalta-se que houve cinco produtores que interromperam a atividade leiteira ou trocaram de indústria beneficiadora durante os 12 meses de acompanhamento do presente estudo; sendo assim, totalizou-se 1035 amostras analisadas durante o presente experimento.

3.2.4 Estatística

Os dados quantitativos e qualitativos foram descritos por meio de estatística descritiva. Além disso, foi realizado o teste de qui-quadrado de Pearson, para avaliar a diferença entre a

proporção de testes positivos e negativos nas diferentes concentrações alcoólicas. Foi realizada análise de regressão, para estimar o efeito das variáveis quantitativas sobre o “LINA acumulado” (o qual foi considerado como a soma dos valores positivos nas diferentes graduações avaliadas, sendo negativo igual a zero, e positivo igual a um). Para definição do modelo, inicialmente foram consideradas as variáveis tamanho total da propriedade, o tamanho destinado para alimentação, a raça dos animais, o volume produzido por vaca/dia e o número de animais em lactação, em seguida foram retiradas as variáveis colineares (verificada pelo fator de inflação da variação, VIF), e a regressão foi estimada pelo método iterativo *stepwise*, em que o melhor modelo foi escolhido pelo critério de Akaike.

Para verificar o efeito do mês sobre a concentração alcoólica necessária para causar a coagulação foi realizado análise de regressão. Foi realizado teste de médias contrastando todos os meses, utilizando o teste Tukey. Todas as análises foram realizadas com auxílio do Software R (R Core Team, 2018).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir são apresentados os resultados da pesquisa realizada de acordo com as metodologias citadas anteriormente e a discussão sobre os assuntos relacionados.

3.3.1 Caracterização das UPL

As UPL que participaram do estudo eram localizadas nos municípios de São João do Oeste (48,9%), Itapiranga (22,2%), Iporã do Oeste (15,6%), Mondai (8,9%) e Tunápolis (4,4%), região extremo Oeste de Santa Catarina. Os resultados da caracterização, relacionados a produção de leite, tamanho da propriedade, área destinada a alimentação, vacas em lactação e o volume médio diário produzido por vaca estão descritos na Tabela 2. Pode-se observar que as UPL utilizam de mão de obra familiar e são caracterizadas por pequenas propriedades rurais. Neste aspecto, 68,9% dos produtores apresentaram área de até 25 ha e o aproveitamento desta área para alimentação dos animais é de aproximadamente 50%, das quais, em média, 5,1 ha são destinados para pastagens perenes e inverno/verão, 6,0 ha destinados a produção de silagem de milho, e, em média, 3,7 ha da área utilizados para silagem também é utilizada com pastagens de inverno durante esta estação do ano. A produção de silagem é uma prática adotada por 44

produtores (97,8%). Valores e características semelhantes aos resultados foram encontrados no estado de Santa Catarina por Costa et al. (2013), Canabarro (2015) e Werncke et al. (2016).

Tabela 2 - Tabela descritiva dos dados das unidades produtoras de leite do extremo oeste de Santa Catarina, avaliadas entre agosto e dezembro de 2016 (n=45).

Parâmetro	Média ± DP	Mínimo	Máximo	Mediana
Área total (ha)	23,6 ± 16	7,0	105,0	20,0
Área destinada para alimentação (ha)	12 ± 5,1	5,9	30,0	10,0
Produção (litros/dia)	412,2 ± 241,3	65,0	1150,0	375,0
Total de animais ² (cab.)	41,7 ± 2,3	18,0	78,0	39,0
Vacas em lactação (cab.)	23,6 ± 9,3	8,0	44,0	24,0
% de vacas em lactação (%)	88 ± 8,2	69,2	100,0	88,9
Volume médio produzido/vaca (litros)	16,6 ± 4,9	6,9	31,1	16,7

¹Desvio Padrão. ²Destinados para bovinocultura de leite (exceto bezerras machos).

Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

O sistema de produção adotado por 41 (91,1%) dos produtores da região em estudo é a pasto com suplementação de concentrado e forragem conservada (silagem de milho), enquanto que, o restante, 4 (8,9%), adotam o sistema semi-confinado, com utilização de pastejo rotacionado e confinamento dos animais de forma intercalada. As principais preocupações nos sistemas de produção a pasto são a baixa qualidade e a disponibilidade de alimentos suficientes de acordo com as necessidades dos animais, especialmente quando pouca ou nenhuma suplementação é utilizada em épocas com baixa oferta de pastagens (COSTA et al., 2013). Embora haja utilização de suplementação com silagem de milho e concentrados pelos produtores, a dieta pode não atender a demanda nutricional dos animais, uma vez que nenhuma das UPL avaliadas recebe atendimento técnico, que faça formulação e balanceamento de dietas. A baixa disponibilidade de área para alimentação dos animais influencia a implantação de sistemas confinados, como o *freestall* e o *compost barn*.

De acordo com o levantamento realizado pelo IBGE (2016) a produtividade média no Brasil e no estado de Santa Catarina, é de 5,6 l/animal/dia (1709 l/animal/ano) e de 9,13 l/animal/ano (2787 l/animal/ano), respectivamente. Desta forma, destaca-se que a região avaliada apresenta uma produtividade acima da média nacional e estadual. Este dado comprova também a importância da região extremo oeste catarinense para a produção de leite no estado, uma vez que pertence a mesorregião de São Miguel do Oeste, e esta, possui uma participação de 21,7% da produção total de leite no estado (EPAGRI/CEPA, 2017), explicado pela maior produtividade e também, possivelmente, uma maior concentração de produtores de leite, devido a característica de possuírem pequenas propriedades.

A porcentagem de vacas em lactação é um dos índices produtivos importantes para medir a eficiência na pecuária leiteira. De acordo com Ferreira e Miranda (2007), a porcentagem de vacas em lactação foi considerada ideal, a região apresenta potencialmente um adequado dimensionamento do rebanho, apesar de ter sido uma observação mensal.

A maioria das propriedades, 60% (27), utilizavam as raças Holandesa e Jersey de forma mista, enquanto que 22,2% (10) utilizam apenas Holandesas e 17,8% (8) utilizam apenas Jerseys. Estes dados se aproximam dos dados obtidos por Abreu (2015) na mesma região, que foram de 56,9%, 25% e 15,7%, respectivamente. Destaca-se desta forma, que os produtores da região buscam aliar maior produção com maior concentração de sólidos. Diferente das regiões do Vale do Braço do Norte, em que na maioria das propriedades predomina a raça Jersey (WERNCKE et al., 2016), assim como na região do Alto Vale do Itajaí, e, a região Meio-Oeste, em que predominam a raça Holandesa (WINCK; THALER NETO, 2012).

Os resultados da estrutura, práticas de ordenha e de higienização dos equipamentos estão descritos na Tabela 3. Foi possível observar que as características das propriedades, com relação a estrutura para ordenha e o sistema de ordenha utilizado foi bastante heterogêneo, em que a maioria das UPL possuiu sala de ordenha e sistema totalmente canalizado. Esta variação ainda é observada atualmente, de acordo com o aporte financeiro e o número de animais para ordenha entre os produtores; porém, a tendência é a utilização de estruturas e sistemas que facilitem o trabalho, tendo em vista a mão de obra escassa no setor e a necessidade de ampliação do rebanho para diluição de custos de produção.

Com relação às práticas de ordenha, observa-se que houve baixa utilização de procedimentos que buscassem a redução de casos de mastite na propriedade, como a utilização de pré e pós *dipping*, os testes da caneca de fundo preto e o *California Mastitis Test* (CMT). Além destes, a lavagem inicial dos tetos e o descarte dos três primeiros jatos não foi uma prática comum observada nas UPL avaliadas. Estes são fatores importantes, tendo em vista que influenciam na qualidade microbiológica do leite, além de prevenir novas infecções intramamárias (PICOLI et al., 2014). É fato que a implantação de boas práticas de ordenha diminuem a CBT em até 93,4% (BOZO et al., 2013). A utilização de pré e pós *dipping*, a realização do teste da caneca do fundo preto e do CMT são equivalentes ao estudo realizado por Abreu (2015) na mesma região, o que destaca que não houve uma melhora na utilização destas práticas pelos produtores nos últimos anos.

Tabela 3 - Características qualitativas relacionadas à estrutura e práticas de ordenha e higienização, pertinentes as unidades produtoras de leite localizadas na região extremo oeste de Santa Catarina, avaliadas entre agosto e dezembro de 2016 (n=45).

Variável	Classe	Frequência relativa (n)	Frequência absoluta (%)	
Qual a estrutura para ordenha?	Sala de ordenha	30	66,7	
	Balde ao pé	15	33,3	
Qual o sistema de ordenha?	Mecânica com transferência manual	13	28,9	
	Mecânica semi-canalizada	10	22,2	
	Totalmente canalizada	22	48,9	
Lava/limpa os tetos antes da ordenha?	Sim	35	77,8	
	Não	10	22,2	
Utiliza pré-dipping?	Sim	23	51,1	
	Não	22	48,9	
Utiliza pós-dipping?	Sim	37	82,2	
	Não	8	17,8	
Descarta os três primeiros jatos?	Sim	38	84,4	
	Não	7	15,6	
Realiza o teste da caneca de fundo preto?	Sim	16	35,6	
	Não	29	64,4	
Realiza o <i>California Mastitis Test</i> (CMT)?	Sim	33	73,3	
	Não	12	26,7	
Utiliza detergente ácido na higienização dos equipamentos de ordenha?	Sim	1x/semana	2	4,4
		2x/semana	13	28,9
		3x/semana	5	11,1
		7x/semana	23	51,2
	Não	-	2	4,4
Utiliza detergente alcalino na higienização dos equipamentos de ordenha?	Sim	7x/semana	45	100
	Não	-	0	0
Utiliza qual tipo de detergente na higienização do tanque resfriador?	Específico	25	55,6	
	Comum	19	42,2	
	Ambos	1	2,2	
Utiliza água quente na higienização do tanque resfriador?	Sim	24	53,3	
	Não	21	46,7	
Quando é realizada a higienização do tanque resfriador?	Logo após a coleta do leite pelo transportador	22	48,9	
	Apenas no início da próxima ordenha	23	51,1	

Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

Quanto a higienização dos equipamentos de ordenha observou-se que em apenas duas UPL não se realizavam o uso do detergente ácido e que a maioria das que utilizavam, adotavam uma frequência de uso diário, intercalado com a utilização do detergente alcalino, que era utilizado diariamente em todas as UPL avaliadas. Já com relação a higienização do tanque resfriador, foi possível observar que a utilização de detergente específico foi a opção da maioria, porém, o uso de detergente comum também foi elevado. Aproximadamente metade das UPL utilizavam água quente na higienização do tanque, e o momento da higienização é variável. A higienização do tanque resfriador tem um papel fundamental na manutenção da qualidade do leite após a ordenha, durante o seu armazenamento, e até a sua chegada e recepção na indústria beneficiadora (TEIXEIRA et al., 2018).

De acordo com Mendonça et al. (2012), a higienização deve ser realizada logo após a coleta do leite, momento em que os resíduos de leite e as sujeiras são removidas com maior facilidade. Além disso, o menor tempo entre a coleta do leite e a higienização do tanque tem o intuito de evitar a multiplicação bacteriana e a possível formação de biofilme (TEIXEIRA et al., 2018). O fato de que em apenas aproximadamente metade das UPL realizavam a higienização logo após a coleta, pode ser justificado pelo horário da coleta pelo transportador, que, em muitas vezes, é realizado durante a madrugada, o que dificulta ao produtor a sua realização imediatamente após a coleta, mesmo conhecendo os benefícios da prática.

A padronização de procedimentos é pouco utilizada em pequenas propriedades rurais baseadas em mão de obra familiar. A utilização de água morna (40°C) e de detergentes específicos para a higienização do tanque resfriador também são práticas recomendadas (MENDONÇA et al., 2012) e mesmo assim, grande porcentagem de produtores não as realizam, o que pode influenciar negativamente a qualidade do leite produzido pelos mesmos.

3.3.2 Ocorrência de leite instável não ácido e avaliação da estabilidade da caseína ao teste do álcool

Nas análises da prova de álcool realizadas em um espaço amostral menor, de n=45, para avaliar a ocorrência de LINA (considerando-se todas as concentrações avaliadas, de 72% a 80%), foi possível determinar a tabela de frequência apresentada na Tabela 4. Para confirmar o diagnóstico de LINA, na análise de acidez por Dornic nenhuma amostra apresentou acidez elevada, com média de 15,7°D (13°D a 18°D), destas amostras, apenas 1 apresentou-se fora da legislação vigente (BRASIL, 2011), com 13°D. A média dos resultados do pH foi de 6,85 (6,72 a 6,92). Nenhuma amostra foi positiva no teste de fervura. Estes resultados demonstram que

houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre as graduações alcoólicas de 72x78, 72x80, 74x78, 74x80, 76x80 e 78x80. Portanto, neste estudo, foi possível identificar que o aumento da concentração alcoólica no teste do álcool intensificou a instabilidade da caseína, e, conseqüentemente, aumentou o número de amostras de LINA. Este resultado concorda com outros autores que também identificaram esta relação (MOLINA et al, 2001; SUÑÉ, 2011; SILVA et al, 2012). Com o resultado apresentado, pode-se afirmar que a maior segurança quanto a seleção da uma matéria prima com maior estabilidade de caseína frente a prova do álcool é a utilização de uma concentração alcoólica de 78%, tendo em vista que não há diferença significativa entre as graduações de 72%, 74% e 76%. Porém, do ponto de vista industrial, a elevação da concentração do álcool das análises de triagem, tem como objetivo a obtenção de uma matéria prima mais estável a altas temperaturas de beneficiamento, como a pasteurização e ultra alta pasteurização (UAT) (SILVA et al., 2012).

Tabela 4 - Tabela de frequências dos resultados da prova do álcool das unidades produtoras de leite da região extremo oeste de Santa Catarina, realizadas entre 11 a 14 de setembro de 2016 (n=45) e entre agosto de 2016 a julho de 2017 (n=1035).

n=45					
Resultado	Graduações alcoólicas % (v/v)				
	72	74	76	78	80
Positivo (%)	2,2 ^a	8,9 ^a	11,1 ^{ab}	24,4 ^b	95,6 ^c
Negativo (%)	97,8	91,1	88,9	75,6	4,4
n=1035					
Resultado	Graduações alcoólicas % (v/v)				
	72	74	76	78	80
Positivo (%)	0,7 ^a	1,6 ^a	9,0 ^b	46,4 ^c	*100,0 ^d
Negativo (%)	99,3	98,4	91,0	53,6	0,0

Dados com letras diferentes na mesma linha em cada resultado, diferem entre si estatisticamente com $P < 0,05$.

*Todas as amostras negativas para graduação alcoólica de 78% foram consideradas positivas para 80%.

Fonte: elaborada pelo autor, 2018.

No entanto, em estudos realizados sobre a relação entre a prova do álcool e a estabilidade térmica, foi concluído que não há correlação entre a concentração alcoólica e a resistência térmica (MOLINA et al., 2001) e que a prova do álcool não é um bom preditor de estabilidade térmica (CHAVEZ et al., 2004). Outro estudo realizado por Fagnani et al. (2016), os autores concluíram que a prova do álcool realizada de forma individual não é um indicador confiável para a qualidade do leite, pois não há relação entre o pH, CBT e acidez Dornic em amostras de leite LINA, e que deve-se portanto, realiza-la em conjunto com outras análises que auxiliem no

diagnóstico de acidez bacteriana ou resistência térmica, como por exemplo, a titulação do ácido láctico, mensuração do pH e o teste da fervura.

É importante salientar que no início, o teste do álcool fora utilizado como determinante da acidez, uma vez que quando há alteração de pH na amostra, a mesma coagula em contato com o álcool (MACHADO, 2010). Porém, outras variantes, além da acidez, também provocam a instabilidade da caseína, como a hidrólise enzimática da caseína, tratamento térmico, excesso de íons cálcio, altas contagens de células somáticas e adição de etanol (O'CONNELL et al., 2001). Este aumento da concentração por parte da indústria, para 76%, 78% e até 80%, gera atrito entre produtores e a indústria, pois a legislação vigente estabelece uma concentração mínima de 72% v/v de etanol (BRASIL, 2011) e não estabelece um limite máximo de concentração.

O aumento da concentração alcoólica, por sua vez, pode aumentar o número de amostras rejeitadas pela indústria (MOLINA et al., 2001), o que leva ao descarte de matéria prima apta para industrialização pautada em legislação, gerando prejuízos aos produtores. Estudos relacionando as diferentes concentrações e sua influência sobre produtos lácteos ainda são escassos na literatura, ainda não sendo possível apresentar uma posição com relação a este assunto. Devido a isto, porém, é possível indicar que a prova do álcool seja utilizada como critério de destinação da matéria prima dentro da indústria beneficiadora para produtos específicos, e não como critério para aceite ou rejeição na plataforma de recepção. Ainda são necessários estudos aprofundados sobre a influência da estabilidade da caseína frente a prova do álcool sobre diferentes produtos lácteos.

Levando em consideração, o intuito das indústrias utilizarem uma graduação maior para selecionarem leite de melhor qualidade, a incidência de LINA na região foi avaliada baseando-se na concentração de 78%, pois foi a concentração que houve diferença significativa com a concentração estipulada por legislação. Portanto, a incidência de LINA foi de 24,4% no levantamento realizado no plano amostral de 45 produtores (uma amostra por produtor), em uma análise no mês de setembro, sendo que neste caso, foi possível afirmar que a amostra foi LINA de fato, uma vez que análises paralelas para diagnóstico de LINA foram realizadas com estas amostras (pH, teste de fervura e acidez titulável). Este dado difere de outros estudos, que encontraram, no mesmo mês avaliado, LINA em 42,5% (ZANELA et al., 2009) e 53% e 31% (MARQUES et al., 2007) nas regiões de Pelotas e Panambi, RS, respectivamente, considerando 76% de concentração alcoólica, o que demonstra que a diferença seria ainda maior, caso as concentrações consideradas fossem equivalentes. Da mesma forma, em Santa Catarina, na

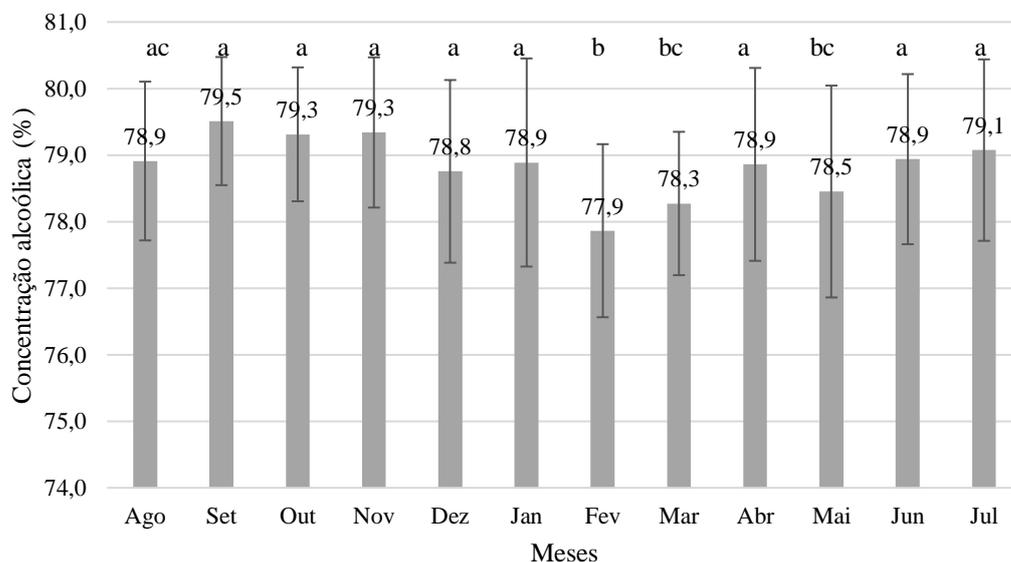
região do Vale do Braço do Norte a incidência de LINA foi de 29,03%, durante um ano de análises, considerando uma concentração ainda menor, de 72% (WERNCKE et al., 2016).

Adicionalmente, o monitoramento anual da prova do álcool teve como objetivo avaliar se o comportamento dos resultados das concentrações de álcool necessárias para causar a coagulação seriam as mesmas quando comparadas a uma análise apenas, realizada no mês de setembro. Destaca-se, porém, que nestes resultados não é possível afirmar que as amostras são LINA, pois os demais testes para confirmação do diagnóstico não foram realizados nestas amostras (acidez titulável, pH ou teste de fervura). Desta forma, os resultados do teste de proporções da prova do álcool, realizadas em um plano amostral maior, de $n=1035$, estão descritos também na Tabela 4. Houve diferença significativa ($P<0,05$) entre as graduações alcoólicas de 72x76, 72x78, 72x80, 74x76, 74x78, 74x80, 76x78, 76x80 e 78x80. Com isso, foi possível destacar que houve diferença entre os resultados nos dois planos amostrais avaliados. No plano amostral maior, de $n=1035$, observou-se uma concentração menor (76%) com diferença significativa em relação a concentração mínima estabelecida em legislação. O que permite determinar que, caso a indústria tenha como objetivo realizar a triagem do leite com uma concentração maior que a mínima respaldada pela legislação (72%), a concentração ideal seria a de 76%, não sendo necessário aumentar ainda mais a concentração, pois desta forma alcançaria uma seleção de matéria prima com maior estabilidade a prova do álcool quando comparada ao mínimo estabelecido em legislação. É importante destacar também que, em um plano amostral maior e com distribuição anual, os dados avaliados são mais confiáveis, e encontraram uma maior porcentagem de amostras positivas a prova do álcool na concentração de 78%.

A média dos resultados do monitoramento da prova do álcool durante 12 meses foram plotados na Figura 2, bem como o teste de médias entre os meses. Para as análises, foi considerada a menor concentração do álcool necessária para causar a coagulação da amostra (positiva). Neste caso, a menor concentração necessária para causar a coagulação foi observada no mês de fevereiro, com um aumento gradativo na sequência das análises. Houve diferença significativa ($P<0,05$) deste mês com os demais meses avaliados, com exceção de março e maio. Este resultado concorda com os resultados de Zanela et al. (2009), que encontraram maiores porcentagens de LINA nos meses de fevereiro e março na região noroeste do Rio Grande do Sul. Estes autores atribuíram a maior ocorrência de LINA nesta época devido à baixa disponibilidade alimentar, pois a pecuária fica restrita a regiões marginais do plantio da soja. Neste estudo a menor concentração necessária para causar a coagulação na prova do álcool pode ser pela mesma causa, pois inserido na baixa área disponível para alimentação dos

animais, está a área destinada a produção de silagem nesta época do ano. Outro fator que pode explicar este resultado, é o estresse térmico, pois nestas épocas a temperatura elevada, aliada a produção a pasto sem sombreamento adequado e baixa disponibilidade de água, podem aumentar a ocorrência da instabilidade da caseína devido ao estresse, que aumenta os níveis de cortisol (SILANIKOVE, 2000), e este, influencia na permeabilidade das *tight junctions* (STELWAGEN et al., 2000). Porém, os períodos de maior ocorrência de LINA podem variar de acordo com a região em estudo (ZANELA et al., 2009). Na região da bacia leiteira de Pelotas, a maior ocorrência foi nos meses de outono, possivelmente caracterizados pela baixa disponibilidade de alimentos nesta época (MARQUES et al., 2007). No presente estudo também houve uma redução na concentração necessária para causar a coagulação entre os meses de maio e junho, possivelmente indicando uma escassez de alimentos devido à entressafra de pastagens verão/inverno.

Figura 2 - Distribuição da média e desvio padrão de concentração necessária para causar a coagulação na prova do álcool entre os meses de agosto de 2016 a julho de 2017 (n=1035).



Legenda: as barras indicam o desvio padrão da média; letras diferentes entre as colunas significam diferença entre a concentração necessária para causar a coagulação na prova do álcool entre os meses ($P < 0,05$).

Fonte: elaborada pelo autor, 2018.

Conforme os resultados obtidos por Werncke et al. (2016), existe uma relação positiva entre o aporte nutricional, a produção de leite/vaca/dia e a estabilidade do leite, o que ressalta a importância do aporte energético adequado para sustentar a produção e a síntese dos componentes lácteos, com reflexos positivos destes sobre a estabilidade, concordando de fato com os resultados do presente estudo, em que, na análise de regressão, realizado em função do

LINA acumulado, as únicas variáveis que apresentaram influência significativa foram a área total destinada à alimentação ($P=0,01$) e a produção média diária por vaca ($P=0,02$), com um R^2 ajustado de 0,723. Torna-se importante ressaltar que não foram avaliadas as quantidades e a composição da alimentação ofertada aos animais durante o período de experimentação.

A correlação entre o LINA acumulado e a área total destinada à alimentação foi negativa ($\rho=-0,34$) e significativa ($P=0,02$), o que determina que quanto menor a área total destinada à alimentação, maior é a probabilidade da ocorrência de LINA. Estudos avaliando a influência da restrição alimentar sobre a estabilidade da caseína já foram realizados, e concluíram que a restrição aumenta a ocorrência de LINA (ZANELA et al., 2006; SUÑÉ, 2011; BARBOSA et al., 2012; STUMPF et al., 2013). Desta forma, por ser uma região caracterizada por pequenas propriedades rurais, o tamanho da propriedade tem influência sobre a ocorrência de LINA, uma vez que a disponibilidade de área para alimentação é menor, e isto ocorre quando a taxa de lotação não é adequada, além da relação com a qualidade de pastagem. Conforme Costa et al. (2013), os principais desafios dos sistemas de produção a pasto são os períodos de baixa disponibilidade de pastagens, principalmente quando o ajuste desta baixa disponibilidade não é compensado em cocho com oferta de maior quantidade de suplementação conservada, como a silagem, e concentrado, influenciada na região em estudo, pela não utilização de apoio técnico no balanceamento de dietas e manejo de pastagens.

A restrição alimentar de vacas de leite causa aumento de estresse, comprovado pela elevação do cortisol em animais submetidos a esta restrição (STUMPF et al., 2013; STUMPF et al., 2016). O estresse por sua vez, afeta a qualidade do leite pois diminui a força de junção das células epiteliais da glândula mamária (*tight junctions*), fazendo com que ocorra a passagem de componentes do soro para o leite e vice-versa (STELWAGEN et al., 2000). Em amostras de LINA, foram encontradas menores porcentagens de lactose em comparação ao leite normal, mesmo sendo um dos componentes mais estáveis do leite (OLIVEIRA; TIMM, 2006; ZANELA et al., 2006; MARQUES et al., 2007), e em função desta diminuição da lactose, pode haver maior passagem de minerais para o leite, conseqüentemente, aumento da força iônica, redução do pH e o aumento da solubilização do cálcio iônico, gerando a desestabilização das micelas de caseína (HORNE; MUIR, 1990) afetando a estabilidade a prova do álcool, justificando o resultado da relação entre a área destinada para alimentação dos animais com o LINA acumulado. Todavia, um maior nível de alimentação foi seguido por uma maior estabilidade do leite ao teste do álcool (STUMPF et al., 2016), possivelmente devido a uma permeabilidade reduzida das *tight junctions* em animais alimentados por completo (STUMPF et al., 2013).

A correlação entre o LINA acumulado e o volume médio produzido por vaca por dia também foi negativa ($\rho=-0,48$) e significativa ($P=0,001$), o que significa que quanto menor a média produzida por dia pelo animal, maior é a probabilidade da ocorrência de LINA. Estudos relacionando a produção média por vaca e o LINA são escassos na literatura, porém, alguns autores apontam que houve maior prevalência de LINA nos produtores que entregaram menores quantidades de leite total, seguindo a tendência de a medida em que o volume de produção médio de leite da propriedade aumentou, diminuiu a incidência de LINA (MARQUES et al., 2007; ZANELA et al., 2009).

3.4 CONCLUSÃO

As pequenas propriedades rurais com base em mão de obra familiar são características da região. Estas utilizam, na sua grande maioria, o sistema de produção a pasto e apresentam uma boa produção por animal quando considerado o sistema de produção e a média nacional. Porém, ainda existem produtores que não adotam práticas aconselhadas para o manejo e higiene de ordenha.

A incidência de LINA na região é baixa e é influenciada pelo tamanho da área destinada para alimentação dentro da propriedade e pela produção média diária dos animais. A correlação negativa entre estas variáveis e o “LINA acumulado” determinam a importância da alimentação sobre a ocorrência de LINA. Foi possível identificar que os meses de fevereiro, março e maio tiveram maiores diferenças significativas com os demais meses, o que sugere que a maior instabilidade a prova do álcool pode ser atribuída ao estresse térmico nos meses mais quentes do ano e também à escassez de alimentos na entressafra de pastagens de verão/inverno.

Na análise do teste de proporções (72x74; 72x76, 72x78, 72x80, 74x76, 74x78, 74x80, 76x78, 76x80, 78x80 v/v), realizado ao longo de 12 meses e baseado somente no teste do álcool, foi possível determinar que, caso a indústria deseje aumentar a concentração alcoólica afim de alcançar uma matéria prima com maior estabilidade a prova do álcool, a concentração em que se obteria diferença significativa nesta seleção, seria de 76% v/v.

4 A ANÁLISE POR RADIAÇÃO INFRAVERMELHA OU POR ULTRASSOM DO LEITE PODE AFETAR SEUS RESULTADOS?

O monitoramento constante da qualidade do leite por parte das indústrias beneficiadoras demanda o uso de metodologias que agregam agilidade e baixo custo por análise, como a utilização de equipamentos eletrônicos que podem ter como princípio a espectroscopia por infravermelho ou por ultrassom. No presente estudo, avaliou-se a qualidade do leite recebido por um laticínio da região extremo oeste catarinense e comparou-se duas metodologias de análise de composição química desta matéria prima.

4.1 INTRODUÇÃO

O uso de metodologias eletrônicas no monitoramento de leite tem ganhado espaço na bovinocultura leiteira, pois fornece de forma rápida e eficiente respostas sobre a composição do leite (HOLROYD, 2013) para o produtor rural (TSENKOVA et al., 2000), e, também, para a indústria, na plataforma de recepção, afim de alcançar a melhor destinação da matéria prima e a utilização de parâmetros para pagamento por qualidade (PONSANO et al., 2007). Além disso, são métodos não-destrutivos que possibilitam uma grande quantidade de análises em um curto período de tempo (BUCKIN et al 2003; TSENKOVA et al., 2000). Os equipamentos de análise rápida de leite baseiam-se nos métodos de espectroscopia infravermelha e ultrassônica.

A espectroscopia por ultrassom tem por princípio a aplicação de ondas sonoras de alta frequência que imprimem forças intermoleculares aos materiais do meio. As oscilações de compressão ou descompressão das ondas causam oscilações no arranjo molecular da amostra, que responde com forças de atração ou repulsão intermoleculares (BUCKIN et al., 2003) sendo, portanto, analisado pela transmissão ou reflexão dos sinais gerados (BHARDWAJ, 2002). Já a espectroscopia por infravermelho baseia-se na capacidade de absorção de radiação, em diferentes comprimentos de ondas, dos grupos químicos específicos de alguns componentes do leite, como gordura, proteína e lactose (BIGGS et al., 1987). A espectroscopia por infravermelho é amplamente utilizada para determinação da composição do leite (HOLROYD, 2013), e é o método padrão adotado pela Rede Brasileira de Laboratórios para Controle da Qualidade do Leite (RBQL), assim como também tem sido adaptado para utilização na determinação de fraudes no leite (POONIA et al., 2017).

Com os desafios encontrados atualmente na cadeia do leite, essas e outras análises são essenciais para a determinação da qualidade e segurança do produto final. Além disso, devem

ser capazes de identificar fraudes ou problemas de qualidade do leite adquirido. Objetivou-se com o presente estudo, avaliar a qualidade do leite recebido por um laticínio da região extremo oeste catarinense e comparar duas metodologias de análise de composição química desta matéria prima.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma amostragem probabilística em 45 produtores todos fornecedores de leite para um mesmo laticínio localizados em quatro municípios do extremo oeste de Santa Catarina, entre 11 a 14 de setembro de 2016. As amostras foram colhidas por funcionário treinado do laticínio, diretamente do tanque de resfriamento de leite de cada produtor, onde foram coletadas as seguintes alíquotas: uma amostra de 300 ml para as análises de composição no laboratório do laticínio, uma amostra em frasco estéril de 40 ml para análise da contagem de células somáticas (CCS), gordura, proteína e lactose, contendo conservante Bronopol e, uma amostra em frasco estéril de 40 ml para análise de contagem bacteriana total (CBT), contendo conservante Azidiol. Ambos os frascos de 40 ml foram enviados para análise no Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros (SARLE), da Universidade de Passo Fundo, para um laboratório credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, integrante da Rede Brasileira de Laboratórios para Controle da Qualidade do Leite (RBQL). Os frascos contendo os conservantes foram homogeneizados por inversão até completa dissolução. Todas as amostras permaneceram sob refrigeração entre 1°C e 10°C, até o momento das análises.

De forma adicional, nas amostras enviadas ao SARLE, foram realizadas análises de composição (gordura, proteína, lactose e extrato seco total) por meio do método de radiação infravermelha (IV) (INTERNATIONAL..., 2013) e contagem de células somáticas por citometria de fluxo (CF) (INTERNATIONAL..., 2006), por meio do equipamento eletrônico *Bentley Combi System 2300*[®], composto pelos equipamentos Bentley 2000 (BENTLEY..., 1998) e SomaCount 300 (BENTLEY..., 1997), respectivamente. A análise de CBT foi realizada pelo mesmo laboratório, por meio da técnica de CF (INTERNATIONAL..., 2004), por meio do equipamento eletrônico IBC BactoCount 150 (Bentley..., 2002).

Paralelamente, no laticínio, a réplica de cada amostra foi utilizada para determinação da gordura, proteína, lactose e densidade através do método de ultrassonografia (US), pelo analisador de leite ultrassônico portátil (Ekomilk Total[®]). Além destes, também foram realizados os testes de acidez titulável (BRASIL, 2006), pH (potenciômetro de bancada,

AKSO[®]), teste de fervura (BRASIL, 2006) e teste do álcool (72% a 80% etanol v/v, em intervalos de 2%) (BRASIL, 2006).

Os dados sobre a qualidade do leite foram apresentados de forma descritiva. Para a realização dos testes de média, foram utilizados os testes T de Student ou Wilcoxon, de acordo com a normalidade e homocedasticidade das variâncias analisadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Quando possível, as transformações de dados foram realizadas usando transformações quadráticas ou logarítmicas. Correlação de Pearson foi realizada entre as variáveis gordura, proteína e lactose, considerando os métodos de análise por infravermelho e ultrassom.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na comparação entre as metodologias avaliadas, não foi verificada diferença significativa ($P > 0,05$) para as médias de gordura. Entretanto, houve diferença significativa para as médias de proteína e lactose (Tabela 1). Os resultados demonstraram correlações positivas e significativas para gordura ($r=0,73$, $P < 0,0001$), proteína ($r=0,47$, $P=0,001$) e lactose ($r=0,51$, $P=0,0003$). No método por ultrassom os parâmetros utilizados na análise da variação dos componentes são a atenuação e a velocidade do som emitido (DUKHIN et al., 2003). A concentração de gordura é diretamente relacionada a propriedade de atenuação, que é determinado pela dispersão de ondas ultrassônicas em amostras não-homogêneas, como emulsões e suspensões (BUCKIN et al., 2003). Além da concentração de lipídeos, o grau de homogeneização também influencia na atenuação do ultrassom, devido as perdas térmicas resultantes da transferência de calor do meio aquoso para os glóbulos de gordura e vice-versa (MILES et al., 1990). Por outro lado, pelo método por infravermelho é registrado a quantidade de radiação absorvida na transmitância em comprimentos de onda específicos a região do infravermelho médio (IDF..., 2013), em que os grupos carbonila (C=O) das ligações éster dos triglicérides absorvem radiação no comprimento de onda de $5,723 \mu\text{m}$ e os grupos carbonohidrogênio (C-H) de $3,48 \mu\text{m}$ (BARBANO e CLARK, 1989; LYNCH et al., 2006). Apesar da possível influência da homogeneização da amostra sobre os resultados, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os métodos para as médias de gordura ($P=0,06$), apontando ausência da influência deste fator na presente pesquisa. O resultado da comparação dos métodos avaliados para a gordura discorda dos resultados obtidos por Pinto *et al.* (2008), que encontraram diferença significativa na comparação dos mesmos métodos ($P=0,0005$). Por outro

lado, a sua correlação foi forte e positiva ($r=0,98$) para este componente, o que concorda com a semelhante correlação positiva e significativa obtida neste estudo ($r=0,73$, $P<0,0001$).

Tabela 5 - Comparação dos teores de gordura, proteína e lactose de leite bovino, avaliados pelos métodos de radiação infravermelha *versus* método por ultrassonografia ($n = 45$).

Parâmetro	Radiação infravermelha¹	Ultrassonografia¹	P
Gordura, % ²	4,11 ± 0,36	4,03 ± 0,41	0,06
Proteína, % ²	3,33 ± 0,21	3,23 ± 0,18	0,001
Lactose, % ³	4,47 ± 0,11	4,83 ± 0,27	<0,0001

¹Média seguida do desvio padrão; ²Teste T; ³Teste WilCoxon.

Fonte: elaborada pelo autor, 2018.

Para proteína, na espectroscopia por ultrassom a concentração de colóides é determinada a partir da avaliação dos distúrbios mecânicos provocados pelas ondas sonoras ao passar pela amostra (MILES et al., 1990; BUCKIN et al., 2003; PONSANO et al., 2007). Ainda, de certa forma, pode-se afirmar que o ultrassom é espalhado e absorvido enquanto se propaga através do sistema heterogêneo (DUKHIN et al., 2003), uma vez que o leite se caracteriza como uma emulsão de glóbulos de gordura e uma suspensão de micelas de caseína em uma fase aquosa, juntamente com lactose, proteínas do soro e minerais solubilizados (GONZÁLEZ, 2001). No método por infravermelho, os grupos amida (CONH) das ligações peptídicas das proteínas absorvem radiação no comprimento de onda em 6,465 μm (BARBANO e CLARK, 1989; LYNCH et al., 2006). Os teores médios de proteínas diferiram ($P=0,001$) entre os dois métodos, porém, a correlação foi positiva e significativa ($r=0,47$, $P=0,001$). Assim como na gordura, a média do teor de proteína foi maior no método IV, em comparação com o método US. Segundo DURR et al. (2001), na determinação de proteína pelo método por IV, o ácido láctico presente na amostra é interpretado como proteína, o que pode causar uma superestimação deste componente total, e, portanto, explicar a diferença significativa encontrada na presente pesquisa.

Assim como a proteína, a lactose é a fase dispersa em meio aquoso, sendo avaliada da mesma forma no método por US. Já pelo método por IV, os grupos hidroxila (OH) da lactose absorvem radiação em comprimento de onda em 9,610 μm (BARBANO e CLARK, 1989; LYNCH et al., 2006). Também houve diferença significativa ($P<0,0001$) entre as metodologias avaliadas para este componente, sendo o parâmetro que teve maior diferença entre as médias e o único que houve diminuição na porcentagem no IV em relação do US. De fato, a lactose é o componente que mais é alterado com o tempo de armazenamento, devido ao seu desdobramento em ácido láctico, em função da ação dos microorganismos (DURR et al., 2001). Conforme

Martins et al. (2009), o efeito do conservante bronopol pode ser influenciado pelo nível de contaminação da amostra, pois conforme seu estudo, o conservante possui tanto efeito bacteriostático em amostras de leite com CBT abaixo de 10^5 UFC/mL quanto bactericida em amostras com CBT superiores a 10^6 UFC/mL. Fisiologicamente, a concentração da lactose é bastante constante, pois atua no controle do influxo de água, devido a sua função na manutenção do equilíbrio osmótico entre o leite e a glândula mamária (GONZALEZ, 2001), devido a este fato, uma baixa variação ao redor da média das análises já corresponde à diferença estatística.

É importante destacar que na espectroscopia por ultrassom é possível verificar que a medição da energia transmitida não é afetada pelo espalhamento múltiplo, o qual ocorre na espectroscopia por infravermelho, por exemplo. O pulso de propagação do ultrassom para frente precede o espalhamento múltiplo, porém, ele apenas decai (atenuação) devido ao espalhamento único, eliminando completamente o problema de dispersão múltipla, sendo uma das maiores vantagens das técnicas baseadas em ultrassom em relação à luz, como o infravermelho (DUKHIN et al., 2003).

As análises de composição química realizadas no estudo (Tabela 2) mostraram que os resultados atenderam os parâmetros mínimos exigidos pela legislação vigente (BRASIL, 2011) em 95,5% (43) dos produtores. Na CBT, observou-se que a mediana ficou abaixo da média, o que justifica o elevado desvio-padrão. Todavia, os resultados foram satisfatórios, pois 84,1% (37) das amostras ficaram dentro dos parâmetros exigidos pela legislação (<300 UFC/ml) e apenas 15,9% (7) das amostras ficaram acima do permitido (>300 UFC/ml) (BRASIL, 2016).

Tabela 6 - Qualidade físico-química e microbiológica do leite, de acordo com análises realizadas em um laboratório oficial da Rede Brasileira de Laboratórios para Controle da Qualidade do Leite (RBQL, pelo método por radiação infravermelha), e em um laboratório de um laticínio comercial (pelo método por ultrassom, US).

Parâmetro	Média ± SD	Máx.	Mín.	Mediana	n
<i>Laboratório RBQL (método Radiação Infravermelha)</i>					
Gordura (%)	4,11 ± 0,36	4,89	3,56	4,03	45
Proteína (%)	3,33 ± 0,21	3,79	2,86	3,31	45
Lactose (%)	4,47 ± 0,10	4,64	4,03	4,48	45
Extrato Seco Total (%)	12,87 ± 0,56	14	11,53	12,82	45
CCS (mil CS/mL) ¹	480 ± 271	1579	86	434	45
CBT (mil UFC/mL) ¹	197 ± 519	2447	3	24,5	44
<i>Laboratório do laticínio (método Ultrassom)</i>					
Gordura (%)	4,03 ± 0,41	4,87	3,3	4	45
Proteína (%)	3,23 ± 0,18	3,41	2,21	3,27	45
Lactose (%)	4,83 ± 0,27	5,09	3,29	4,87	45
Dornic (°D)	15,7 ± 0,8	18	13	16	45
pH	6,85 ± 0,05	6,92	6,72	6,85	45
Densidade (g/mL)	1,031 ± 0,0008	1,0319	1,0274	1,031	44
Crioscopia (°H)	-0,540 ± 0,006	-0,527	-0,559	-0,539	45

¹Método de citometria de fluxo.

Fonte: elaborada pelo autor, 2018.

Conforme Tronco (2010), para um estado normal do úbere, o ideal é uma quantidade menor que 250.000 células somáticas (CS)/ml. Apenas 15,6% das amostras poderiam ser consideradas dentro dos padrões de estado ideal para a glândula mamária. Quando os valores individuais são comparados à legislação vigente, 64,4% (29) das amostras ficaram dentro dos parâmetros permitidos (<500 mil CS/ml) (BRASIL, 2016), 26,7% (12) entre 500 e 750 mil CS/ml, e apenas 8,9% (4) ficaram acima dos 750 mil CS/ml. Conforme Voges et al. (2015), existe uma relação positiva entre CBT e CCS, o que determina que os mesmos fatores que afetam a qualidade microbiológica do leite afetam a saúde da glândula mamária, justificando que propriedades com problemas de higiene terão grande probabilidade de ter problemas também com mastite subclínica. Neste sentido, dos 7 produtores com elevada CBT, todos apresentaram também CCS acima dos níveis adequados para uma glândula saudável, conforme Tronco (2010), de 250.000 CS/ml. Além dos parâmetros sanitários envolvidos na alta CCS, ela também influencia na precisão da determinação por espectroscopia no infravermelho, onde estudos realizados por Tsenkova et al. (2001), concluíram que a utilização de amostras de leite com alto CCS em um conjunto de dados para calibração ou predição influenciaram fortemente a precisão da determinação de gordura, proteína e lactose, aumentando o erro padrão de predição e diminuindo o coeficiente de correlação significativamente. Destaca-se, portanto, a

necessidade de utilização de leite com baixa CCS para calibração de equipamentos baseados em IV e sugere-se pesquisa sobre a influência da CCS sobre a análise por US.

4.4 CONCLUSÃO

A comparação das metodologias por US e IV na análise de leite mostrou que pode haver diferença nos resultados, e a correlação positiva entre as metodologias é regular. Tendo em vista que dois dentre três parâmetros avaliados diferiram (proteína e lactose), sugere-se que a indústria beneficiadora utilize apenas uma das metodologias para tomada de decisões, pois pode haver contradição de resultados caso ambas sejam utilizadas em conjunto visando o controle da matéria prima recebida e consequente pagamento por qualidade. Os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas foram satisfatórios, principalmente com relação à CBT, o que mostra uma preocupação por parte do produtor com relação manejo e higiene de ordenha, aliado ao apoio técnico realizado pelo laticínio.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A bovinocultura apresenta um papel social e econômico extremamente importante na região estudada, principalmente pelas dificuldades com relação as elevações e ondulações da área, o que, em muitos casos, restringe a produção de outra cultura. Aliado a isso, a expansão de laticínios na região viabilizada o crescimento dos produtores. Este crescimento, por sua vez, necessita, além do aumento da produção e produtividade, também da melhoria da qualidade, afim de fornecer uma matéria prima de qualidade a indústria beneficiadora.

O levantamento das características dos produtores da região extremo oeste de Santa Catarina possibilitou a disponibilização de dados importantes das unidades produtoras de leite (UPL), afim de auxiliar no direcionamento da assistência técnica voltada aos produtores. Além disso, foi possível identificar quais as características que possuem influência sobre a ocorrência de leite instável não ácido (LINA), evidenciando que, além das práticas adequadas de manejo de ordenha e higienização de ordenha, outros fatores também são importantes para a qualidade do leite produzido na propriedade, como a área destinada a alimentação dos animais e a média de produção por dia do animal.

É possível destacar que um planejamento forrageiro anual deva ser feito em cada propriedade, afim de atender a demanda nutricional dos animais durante todos os períodos do ano, o que possibilita uma qualidade melhor de leite e também uma maior produção. A atenção aos períodos quentes, época em que também é realizada a produção de silagem, o que diminui ainda mais a área destinada a alimentação dos animais, e a entressafra de pastagem de verão e inverno é de extrema importância para gerenciamento adequado da propriedade.

Por fim, os métodos de análise rápida do leite são uma tendência, tanto na indústria, quanto diretamente nas propriedades rurais, para o monitoramento constante da produção e recepção do leite. Este estudo evidenciou que pode haver diferença nos resultados quando ocorre a utilização de duas metodologias diferentes, por ultrassom e por radiação infravermelho. Deve-se, portanto, realizar a escolha de apenas uma metodologia na tomada de decisões, além da manutenção e calibração constante dos equipamentos.

REFERÊNCIAS

ABREU, A. S. de. **Fatores nutricionais e não nutricionais que afetam a composição do leite bovino**. 2015. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia. Porto Alegre, 2015.

ABREU, A. S. de. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey**. 2008. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008.

ABREU, Luiz Ronaldo de. **Leite e derivados, caracterização físico-química, qualidade e legislação**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005.

AERNOUTS, B. et al. Mid-infrared spectrometry of milk for dairy metabolomics: a comparison of two sampling techniques and affect of homogenization. **Analytica Chimica Acta**. [S.l.], v. 705, p. 88-97. 2011.

BARBANO, D. M.; CLARK, J. L. Infrared milk analysis – Challenges for the future. **Journal of Dairy Science**, [S.l.], v. 72, p. 1627–1636, 1989.

BARBOSA, R. S. et al. Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 4, p. 621-628, abr. 2012.

BARBOSA, R. S. et al. Ensaio preliminares sobre o efeito do leite instável não ácido (LINA) na industrialização do queijo minas frescal. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, 1; 2006. **Anais eletrônicos...** Pelotas: Embrapa, 2006.

BELOTI, Vanerli. **Leite: obtenção, inspeção e qualidade**. Londrina: Editora Planta. 2015.

BENTLEY INSTRUMENTS INC. **Bentley 2000 operator's manual**. Chaska, MN, EUA: Bentley Instruments Inc., 1998. 79p.

BENTLEY INSTRUMENTS INC. **Bentley Bactocount IBC – User manual**. Chaska MN, EUA: Bentley Instruments Inc., 2007. 142p.

BENTLEY INSTRUMENTS INC. **Somacount 300 operator's manual**. Chaska MN, EUA: Bentley Instruments Inc., 1997. 116p.

BHARDWAJ, M.C. **Non contact ultrasound: the final frontier in non destructive analysis**. Boalsburg: Second Wave Systems, 2002. 50p.

BIGGS, D. A. et al. Analysis of fat, protein, lactose and total solids by infra-red absorption. In: **Monograph on rapid indirect methods for measurement of the major components of milk**. Bulletin of International Dairy Federation, v. 208, p. 21-29. 1987.

BODENMÜLLER FILHO, A. et al. Tipologia de sistemas de produção baseada nas características do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 8, p. 1832–

1839, 2010.

BOZO, G. A. et al. Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 65, n. 2, p. 589–594, 2013.

BRASIL. Instrução Normativa no. 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 dez. 2011, Seção 1, p. 6. 2011.

BRASIL. Instrução Normativa no. 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 13 dez. 2006, Seção 1, p. 8. 2006.

BRASIL. Instrução Normativa no. 7, de 03 de maio de 2016. Altera o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 04 mai. 2016, Seção 1, p.11. 2016.

BRASIL. Instrução Normativa no 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos a esta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 mar. 2017.

BUCKIN, V.; O'DRISCOLL, B.; SMYTH, C. Ultrasonic spectroscopy for material analysis: recent advances. **Spectroscopy Europe**, v. 15, p. 20–25, 2003.

CANABARRO, L. O. **Tipologia de unidades produtoras de leite no Planalto Norte Catarinense**. 2015. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2015.

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

CNA. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. PIB e performance do agronegócio. 2016. Disponível em:
<http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/02_pib.pdf>. Acesso em: 25/04/2018.

COSTA, J. H. C. et al. A survey of management practices that influence production and welfare of dairy cattle on family farms in southern Brazil. **Journal of Dairy Science**. v. 96, p. 307-317. 2013.

COSTABEL, L.M. et al. Estudio de la relación entre aptitud a la coagulación pro cuajo y prueba de alcohol en muestras de leche da vacas individuales. In: Conferência Internacional do Leite Instável, 1.,2009. Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

DALGLEISH, D. G. On the structural models of bovine casein micelles – review and possible improvements. **Soft Matter**, v. 7, p. 2265–2272. 2011.

DUKHIN, A. S. et al. **Ultrasound for characterizing liquid based food products**. 1 – acoustic spectroscopy. Mount Kisco: Dispersion Technology. 2003. Available from: <<http://www.dispersion.com/ultrasound-for-characterizing-liquid-based-food-products>> Accessed on: Mar. 12, 2018.

DÜRR, J.W. et al. Determinação laboratorial dos componentes do leite. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. (Eds.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS. 2001. p. 23-29.

EPAGRI/CEPA. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola. Estado de Santa Catarina. Síntese anual da agricultura de Santa Catarina 2016-2017. v. 1. Florianópolis: Epagri/Cepa. 2017. Disponível em: <http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_cepa/publicacoes/Sintese-Anual-da-Agricultura-SC_2016_17.pdf>. Acesso em: 20/05/2018.

FAGNANI, R. et al. Estabilidade do leite ao álcool ainda pode ser um indicador confiável? **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, GO. v. 17, n. 3, p. 386-394. 2016.

FARIA, P. F. de. **Ocorrência de leite instável na região semiárida do Rio Grande do Norte e sua correlação com a qualidade do leite**. 2015. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Macaíba, RN. 2015.

FERREIRA, A. de M.; MIRANDA, J. E. C. de. Medidas de eficiência da atividade leiteira: índices zootécnicos para rebanhos leiteiros. Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Gado de Leite, 2007. Juiz de Fora. 8 p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 54.).

FISCHER, V. et al. Leite instável não ácido (LINA): prevenção na propriedade leiteira e impactos nos laticínios. In: III Simpósio Nacional de Bovinocultura de Leite e 1st International Symposium of Dairy Cattle. **Anais...** Viçosa, MG, p. 45-65, 2011.

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

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

FREITAS, H. et al. O método de pesquisa survey. **Revista de Administração**, São Paulo. v. 35, p. 105-112, jul/set. 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. (Eds.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS. 2001. p. 5-22.

HOLROYD, S. E. The use of near infrared spectroscopy on milk and milk products. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, [S.l], v. 21, p. 311-322. 2013.

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**, Germany, v. 33, p. 421-434. 2004.

HORNE, D. S.; MUIR, D. D. Alcohol and heat stability of Milk protein. **Journal of Dairy Science**, [S.l], v. 73, n. 12, p. 3613-3626, 1990.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da pecuária municipal, Rio de Janeiro, v. 44, p. 1-51. 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk - Quantitative determination of bacteriological quality - Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results. IDF Standard 196 First Edition. Brussels: International Dairy Federation. 2004.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk and liquid milk products - Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry. IDF Standard 141 Second Edition. Brussels: International Dairy Federation. 2013.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk: enumeration of somatic cell. IDF Standard 148-2 Second Edition. Brussels: International Dairy Federation. 2006.

LEITE, M. de O.. **Fatores interferentes na análise eletrônica da qualidade do leite cru conservado com azidiol líquido, azidiol comprimido e bronopol**. 2006. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2006.

LYNCH, J. M. et al. Precalibration evaluation procedures for mid-infrared milk analyzers. **Journal of Dairy Science**, [S.l], v. 89, p. 2761-2774. 2006.

MACHADO, S. C. **Fatores que afetam a estabilidade do leite bovino**. 2010. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. 2010.

MARCONDES, T. Produção leiteira em Santa Catarina: situação atual e perspectivas. **Agropecuária catarinense**, [S.l], v.18, n.1, p.20-23, 2005.

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**, Viçosa, MG, v. 40, n. 5, p. 1088-1094. 2011.

MARQUES, L.T. et al. Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 12, p. 2724-2730, 2010b.

MARQUES, L.T. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, [S.l], v. 13, n. 1, p. 91-97, 2007.

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

MARTINS, A. M. C. V. et al. Efeito do processamento UAT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 295-298, abr./jun.. 2008.

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

MARTINS, M. E. P. et al. Conservantes bronopol e azidiol: influência do binômio tempo/temperatura na contagem bacteriana total do leite cru. **Ciência Animal Brasileira**, [S.l], v. 10, p. 627-633. 2009.

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

MENDONÇA, L. C.; GUIMARÃES, A. S.; BRITO, M. A. V. P. **Higienização do tanque de refrigeração**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2012, 2 p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 65).

MENEGON, M. F. **Eficácia da espectroscopia por ultrassom e do congelamento na avaliação da composição química do leite**. 2016. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Mato Grosso. Sinop, MT. 2016.

MILES, C. A. et al. Attenuation of ultrasound in milks and creams. **Ultrasonics**, [S.l], v. 28, p. 394-400. 1990.

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

NORNBERG, M. de F. B. L.; TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Bactérias psicrotólicas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, RS, v. 37, n. 2, p. 157-163. 2009.

O'CONNELL, J. E. et al. Mechanism for the ethanol dependent heat-induced dissociation of casein micelles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 49, p. 4424-4428, 2001.

OLIVEIRA D. S.; TIMM C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. [S.l.], v. 26, n. 2, p. 259-263. 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 e Produção Animal**, [S.l.], v. 12, n. 2, p. 508-515. 2011.

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

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PICOLI, T. et al. Manejo de ordenha como fator de risco na ocorrência de micro-organismos em leite cru. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.l.], v. 35, n. 4, p. 2471–2480, 2014.

PINTO, A. T. et al. Correlação entre os métodos infravermelho e ultra-som na determinação da composição química do leite das vacas do concurso leiteiro da Expointer 2007. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, RS, v. 36, p. 273-276. 2008.

PONCE CEBALLO, P.; AGUILERA, G. P. Síndrome de leche anormal: un enfoque integral sobre las alteraciones en las características físico-químicas de la leche las condiciones de Cuba. In: I Conferência Internacional sobre Leite Instável. 1., 2009, Pelotas. **Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado**, 2009.

PONCE CEBALLO, P.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. (Eds.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS. 2001. p. 61-72.

PONSANO, E. H. G. et al. Correlação entre métodos tradicionais e espectroscopia de ultrassom na determinação de características físico-químicas do leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 1052-1057, 2007.

POONIA, A. et al. Detection of adulteration in milk: A review. **International Journal of Dairy Technology**, v. 70, p. 23-42. 2017.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.

RIBEIRO, M. E. R. et al. Ensaios preliminares sobre o efeito do leite instável não ácido (LINA) na industrialização do iogurte batido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2. 2006. Goiânia/GO: **Anais Eletrônicos...** Goiânia, 2006.

ROBIM, M. S. et al. Pesquisa de fraude no leite UAT integral comercializado no estado do Rio de Janeiro e comparação entre os métodos de análises físico-químicas oficiais e o método de ultrassom. **Revista do Inst. de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 67, n. 389, p. 43-50, nov./dez.. 2012.

ROMA JÚNIOR, L. C. et al. Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. [S.l], v. 61, n. 6, p. 1411-1418. 2009.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades estruturais e físico químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, p. 43-56. 2005.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, [S.l], v.67, p.1-18, 2000.

SILVA, L. C. C. et al. Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [S.l], n. 384, v. 67, p. 55-60, jan./fev., 2012.

SILVEIRA, T. M. L. et al. Comparação entre os métodos de referência e a análise eletrônica na determinação da composição do leite bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.l], v. 56, n. 6, p. 782-787. 2004.

STELWAGEN, K. et al. Short Communication: effects of isolation stress on mammary tight junctions in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 88, p. 48-51. 2000.

STELWAGEN, K. et al. Time course of milk accumulation-induced opening of mammary tight junctions and blood clearance of milk components. **American Journal of Physiology**. v. 273, p. 379-386, 1997.

STUMPF, M. T. et al. Behaviors associates with cows more prone to produce milk with reduced stability to ethanol test due to feeding restriction. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 9, p. 1662-1667. 2016.

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

SUÑÉ, R. W. **A incidência do leite instável não ácido no leite de vacas da raça Holandesa submetidas a três níveis alimentares**. Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS. 2011.

TEIXEIRA, S. R. et al. **Manual de manutenção da qualidade do leite cru refrigerado armazenado em tanques coletivos para produtores, técnicos, transportadores e coletadores de amostras de leite**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. 2018.

THALER NETO, A. Melhoramento genético aplicado à produção do leite. In: SIMPÓSIO DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2. Chapecó - SC. **Anais...** Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários, p. 143-161. 2006.

TRONCO, V. M. **Manual de Inspeção da Qualidade do Leite**. 4ª ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2010.

TSENKOVA, R. et al. Near-infrared spectroscopy for biomonitoring - influence of somatic cell count on cow's milk composition analysis. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 779-783. 2001.

TSENKOVA, R. et al. Near infrared spectroscopy for biomonitoring cow milk composition measurement in a spectral region from 1,100 to 2,400 nanometers. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 515-522. 2000.

VENTUROSOS, R. C. et al. Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultrassom. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [S.l.], v. 43, n. 4, p. 607-613, out./dez.. 2007.

VOGES, J. G. et al. Qualidade do leite e a sua relação com o sistema de produção e a estrutura para ordenha. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, [S.l.], v. 22, p. 171-175. 2015.

WALSTRA, P. On the Stability of casein micelles. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 1965-1979. 1990.

WERNCKE, D. et al. Qualidade do leite e perfil das propriedades leiteiras no sul de Santa Catarina: abordagem multivariada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.l.], v. 68, n. 2, p. 506- 516, 2016.

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**. 2012. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC. 2012.

WILLERS, C. D. et al. Determination of indirect water consumption and suggestions for cleaner production initiatives for the milk-producing sector in a Brazilian middle-sized dairy farming. **Journal of Cleaner Production**, [S.l.], v. 72, p. 146-152, 2014.

WINCK, C. A.; THALER NETO, A. Perfil de propriedades leiteiras de Santa Catarina em relação à Instrução normativa 51. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, [S.l.], v. 13, p. 296-305, 2012.

ZANELA, M. B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do sul, ocorrência e indução experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA)**. 2004. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel, Pelotas, RS. 2004.

ZANELA, M. B. et al. **Leite Instável não ácido (LINA) - Variações na composição do leite**. Circular Técnica 166 (EMBRAPA). Pelotas, RS. 2015.

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

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V. **Leite instável não ácido (LINA): do campo a indústria. VI Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite.** Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor de Ciências Agrárias, Curitiba, PR. 2015. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1028467/1/MairaZanelaVICBQL2015.pdf>>. Acesso em: 24 de abril de 2018.

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

ZANELLA, M. B. et al. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 41, n.5, p. 835-840, 2006.