

LEONARDO CAMPOS AGOSTINI

**INCIDÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA) EM UMA MICROBACIA  
LEITEIRA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2011

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A275i  
2011

Agostini, Leonardo Campos, 1979-  
Incidência de leite instável não ácido (LINA) em uma  
microbacia leiteira no estado do Espírito Santo / Leonardo  
Campos Agostini. – Viçosa, MG, 2011.  
viii, 36f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Augusto César de Queiroz  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 32-36.

1. Nutrição animal. 2. Leite - Espírito Santo (Estado).  
3. Gordura. 4. Caseína. 5. Lactose. 6. Proteínas. 7. Cálcio.  
8. Minerais na nutrição. 9. Alimentos - Teor mineral.  
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 636.085

LEONARDO CAMPOS AGOSTINI

**INCIDÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA) EM UMA MICROBACIA  
LEITEIRA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 08 de julho de 2011

---

Profa. Cristina Mattos Veloso  
(Coorientadora)

---

Márcia Maria Candido da Silva

---

Augusto César de Queiroz  
(Orientador)

## **DEDICATÓRIAS**

**A DEUS por estar sempre ao meu lado.**

**Ao meu pai, Clemildo, pelo companheirismo e apoio em todos os momentos.**

**À minha mãe, Eunice, pelos conselhos e suporte sempre dispensados.**

**À minha esposa, Vanessa, pela companhia, compreensão, amor, dedicação e cumplicidade.**

**À minha família, pelos estímulos sempre recebidos por meio de sua atenção e carinho.**

## **AGRADECIMENTOS**

**À Universidade Federal de Viçosa – UFV, pela oportunidade oferecida para realização deste curso.**

**Ao Professor Augusto César de Queiroz, pela orientação, ensinamentos transmitidos e confiança em mim depositada.**

**À Professora e coorientadora, Cristina Mattos Veloso, pelo apoio sempre oferecido e suporte em todo desenvolvimento do projeto.**

**À Márcia Maria Cândido da Silva, pelas dicas técnicas e orientações em todo processo.**

**Aos amigos Leandro Abreu e Marcos Beltrame por toda ajuda oferecida e suporte oferecido nas análises laboratoriais.**

**À grande família da Agroindústria Queijos Bela Vista, pela permissão e colaboração na coleta das amostras.**

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

## **BIOGRAFIA**

**Leonardo Campos Agostini, nascido no município de Vitória, Espírito Santo, em 23 de Janeiro de 1979, filho de Clemildo Curto Agostini e Eunice Campos Agostini, concluiu o curso de graduação em Medicina Veterinária no Centro Universitário de Vila Velha – UVV, no ano de 2002, onde desenvolveu atividades extracurriculares na área de bovinocultura leiteira. No ano de 2006, concluiu o curso de Pós Graduação em Bovinocultura de Leite pela Universidade Federal de Lavras – UFLA. Ingressou, em 2009, no Mestrado Profissionalizante em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa- UFV, tendo defendido sua dissertação em 08 de julho de 2011.**

# CONTEÚDO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	05
Composição normal do leite.....	07
Teor de gordura.....	09
Proteínas.....	10
Lactose.....	12
Densidade.....	13
Acidez.....	14
Contagem de células somáticas no leite.....	15
Leite instável não ácido (LINA).....	16
Composição e características físico-químicas do LINA.....	18
Cálcio iônico e fosfato.....	20
Outros minerais.....	21
Época do ano.....	22
Nutrição.....	23
Estágios de lactação.....	23
OBJETIVOS.....	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
Coleta de amostras.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

## RESUMO

AGOSTINI, Leonardo Campos, M.S.c., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011. **Incidência de leite instável não ácido (LINA) em uma microbacia leiteira no estado do Espírito Santo.** Orientador: Augusto César de Queiroz. Coorientadora: Cristina Mattos Veloso.

Este trabalho tem como objetivo detectar, em determinado período do ano, a ocorrência de LINA e avaliar as possíveis causas desta instabilidade, analisando aspectos higiênicos, manejo e nutrição dos rebanhos da região da microbacia leiteira de São José de Bela Vista em Conceição do Castelo-ES.

O leite, por natureza, é um alimento rico em nutrientes, contendo proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e sais minerais. Sendo assim, denomina-se leite de qualidade, aquele cuja composição química, microbiológica e organoléptica atenda os parâmetros de qualidade exigidos internacionalmente, devendo, ainda, ser isento de antibióticos, desinfetantes ou adulterantes e ser oriundo de rebanhos com sanidade monitorada. Sua qualidade é um dos temas mais discutidos, atualmente na pecuária leiteira, mesmo sabendo-se que, de maneira geral, o leite aqui produzido apresenta altas contagens de microrganismos, caracterizando, com isso deficiências na higiene de produção. Entre os diversos testes realizados para avaliar a qualidade do leite produzido, um dos mais utilizados é a prova do álcool, alizarol realizada na propriedade, antes do carregamento do leite. Resultados positivos podem ser detectados quando houver acidificação do leite devido à presença de culturas bacterianas e, mais recentemente, tem sido descrita, em vários trabalhos, a instabilidade da caseína sem relação com acidez elevada, denominada Leite instável não ácido (LINA). Esses resultados levam a confusões, pois o leite é erroneamente interpretado como ácido, penalizando o produtor sem que esse possa



identificar o que acontece no rebanho. Este trabalho tem como objetivo detectar, em determinado período do ano, a ocorrência de LINA e avaliar as possíveis causas desta instabilidade, analisando aspectos higiênicos, manejo e nutrição dos rebanhos da região da microbacia leiteira de São José de Bela Vista em Conceição do Castelo-ES.

## ABSTRACT

AGOSTINI, Leonardo Campos, M.S.c., Universidade Federal de Viçosa, July 2011. **Incidence of milk unstable no-acid (LINA) in a watershed dairy in the state of Espírito Santo.** Adviser: Augusto César de Queiroz. Co-Advisers: Cristina Mattos Veloso.

Milk, by nature, is a nutrient-rich food containing proteins, carbohydrates, fats, vitamins and minerals. Therefore, it is called milk quality, the one whose chemical composition, microbiological, organoleptic quality parameters meet internationally required and must be free of antibiotics, disinfectants and contaminants and be from herds with health monitored. Its quality is one of the most discussed topics currently in the national stage of milk production, even though it is known that in general, the milk produced here has high counts of microorganisms, characterizing it with deficiencies in hygiene of its production. Among the several tests performed to evaluate the quality of milk produced, one of the most used is the alcohol test, conducted on the property before loading the milk. Positive results can be detected when there is acidification of milk due to the presence of bacterial cultures, and more recently has been described in several studies to casein instability unrelated to acidity known by the acronym LINA. These results lead to confusion, because milk is wrongly interpreted as an acid, without penalizing the producer that can identify what happens in the herd. This work aims to detect in a time of year it occurs and to evaluate possible causes of this instability, analyzing aspects hygienic, nutritional and management of livestock in the region.

## INTRODUÇÃO

O leite, por natureza, é um alimento rico em nutrientes, contendo proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e sais minerais (SANTOS e FONSECA, 2001). Sendo assim, denomina-se leite de qualidade aquele cuja composição química e microbiológica, organoléptica atenda os parâmetros de qualidade exigidos internacionalmente, devendo, ainda, ser isento de antibióticos, desinfetantes ou adulterantes e ser oriundo de rebanhos com sanidade monitorada (RIBEIRO et al., 2006).

Depois de secretado do úbere, o leite pode ser contaminado por microrganismos, a partir de três principais fontes: de dentro da glândula mamária, da superfície exterior do úbere e tetos, e da superfície do equipamento e utensílios de ordenha e tanque. Desta forma, a saúde da glândula mamária, a higiene de ordenha, o ambiente em que a vaca fica alojada e os procedimentos de limpeza do equipamento de ordenha são fatores que afetam diretamente a contaminação microbiana do leite cru (FONSECA, 2001).

Sua qualidade é um dos temas mais discutidos, atualmente, dentro do cenário nacional de produção leiteira, mesmo sabendo-se que, de maneira geral, o leite aqui produzido apresenta altas contagens de microrganismos, caracterizando, com isso deficiências na higiene de produção (CERQUEIRA et al., 1994).

De acordo com MONARDES (2004), os parâmetros de qualidade do leite são cada vez mais utilizados para detectar falhas nas práticas de manejo e servir como referência na valorização da matéria-prima. Os principais

parâmetros utilizados pela maioria dos programas de qualidade do leite estão fundamentados no conteúdo de gordura e proteína, contagens de células somáticas (CCS) e bacterianas totais (CBT), adulteração por adição de água, presença de resíduos e antibióticos, qualidade organoléptica e temperatura da matéria-prima.

Assim como qualquer outro alimento, a qualidade do leite e de seus derivados é regulamentada pelos órgãos oficiais, responsáveis por assegurar a segurança alimentar da população. Uma vez que não há como melhorar a qualidade do leite por meio de processos industriais, a única maneira de se garantir o fornecimento de um produto seguro por meio do controle das condições de produção, conservação e transporte até sua chegada à indústria (DÜRR, 2004).

A qualidade do leite que chega às indústrias de processamento é determinada pela qualidade do leite coletado nas fazendas e, portanto, todo processo inicia-se nas propriedades rurais. Ao contrário da opinião popular, as indústrias de laticínios não conseguem melhorar a qualidade do leite cru, mesmo quando é pasteurizado adequadamente. Isto ocorre porque as enzimas geradas pelo crescimento microbiano ainda estarão presentes nos produtos processados e continuarão a degradar a proteína e gordura do leite. Desta forma, busca-se cada vez mais concentrar todos os esforços para assegurar que o leite saia das propriedades com a mais alta qualidade, pois este fornecerá às indústrias maior flexibilidade em seus processos, tendo efeito positivo no prazo de validade dos produtos processados e aumentando a confiança dos consumidores nos produtos lácteos (PHILPOT, 2002).

A indústria leiteira mundial atravessa um período de intensas transformações em sua estrutura, e podem-se identificar como principais

tendências a diferenciação do pagamento ao produtor e o aumento nas exigências de qualidade do leite por parte das indústrias, assim como maior preocupação dos consumidores com relação à segurança alimentar (PRATA, 1998). Nesse novo cenário, os produtores precisam se adequar de forma a manter a atividade de produção de leite como uma operação rentável e eficaz.

A legislação sobre a produção de leite no Brasil foi alterada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que antes era denominado "Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite", que tinha como objetivo implementar várias mudanças na legislação brasileira no que se refere à qualidade do leite, passou por consulta pública e, após algumas alterações, transformou-se na Instrução Normativa nº 51 de 18/09/2002.

As principais mudanças que esta nova Instrução Normativa trará será a adoção de parâmetros de qualidade como a contagem bacteriana total, a contagem de células somáticas, a ausência de resíduos de antibióticos, entre outros. A adaptação dos produtores a esta nova lei será feita de forma gradual, a fim de atingir os níveis finais exigidos no prazo de sete anos após a sua entrada em vigor.

A ocorrência de leite com instabilidade protéica, mas com baixa acidez (caracterizados como leite instável não ácido - LINA), é um problema encontrado em várias regiões do Brasil. Deste modo, o estudo dos fatores relacionados à ocorrência do mesmo é de suma importância econômica.

Este trabalho tem como finalidade determinar os parâmetros da estabilidade ao álcool alizarol (72%), como indicador da qualidade do leite obtido nas propriedades. O leite destas, quando apresenta reação positiva à prova do álcool, faz com que os produtores arquem com sérias perdas econômicas, devido ao não-recebimento pelo leite produzido. Entretanto,

existem poucos estudos quanto à ocorrência de leite com instabilidade da caseína não decorrente de acidez adquirida ou mastite, não tendo sido ainda definida a importância do problema, devido à falta de dados para quantificação das perdas na produção e seu impacto econômico.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil apresenta várias regiões com condições favoráveis à produção leiteira, a qual possui grande impacto social e econômico, pois aproximadamente 10% de sua população se encontram ligadas direta ou indiretamente à atividade. Porém, o setor leiteiro apresenta problemas de eficiência produtiva e de qualidade de produto, perdendo em competitividade para setores como suinocultura e avicultura industriais.

Quanto maior for a estabilidade térmica, maior a qualidade do produto final e o tempo de prateleira, e menores os riscos à saúde do consumidor (SANTOS E FONSECA, 2007).

BALBINOTTI et al. (2003) relatam que, atualmente, a redução da estabilidade térmica do leite é um problema frequentemente encontrado em vários estados do Brasil. A instabilidade apresenta-se como um problema multifatorial, que inclui mudança brusca de dieta, ou pastos ricos em cálcio, com deficiências ou desbalanços minerais (Ca, P, Mg), com época do ano, período de lactação da vaca, subnutrição e acidose ruminal e metabólica (MARQUES et al., 2007).

Entre os diversos testes realizados para avaliar a qualidade do leite produzido, um dos mais utilizados é a prova do álcool, realizada na propriedade antes do carregamento do leite. A prova avalia a estabilidade das proteínas lácteas submetidas à desidratação provocada pelo álcool e é usada para estimar a estabilidade do leite, quando submetido ao tratamento térmico. GUO et al. (1998) mencionam que a estabilidade coloidal das micelas de caseína depende de vários fatores, como a composição das micelas e sua estrutura, pH

do meio, temperatura, força iônica ou balanço de sais, especialmente a concentração de cálcio iônico e fosfatos.

A caseína é uma das proteínas sintetizadas pela glândula mamária, tendo maior influência sobre a estabilidade do leite. Resultados positivos podem ser detectados quando houver acidificação do leite devido à presença de culturas bacterianas e, mais recentemente, tem sido descrita a instabilidade da caseína sem relação com acidez elevada (GUO et al., 1998).

Porém, SANTOS (2007) comenta que o teste do alizarol pode apresentar resultados alterados nas seguintes condições: elevada acidez do leite elevado, índice de mastite do rebanho, vacas próximas do final da lactação ou recém-paridas e desequilíbrio salino (excesso de cálcio e magnésio em relação a fosfato e citrato). O leite que coagula nessa prova não resiste ao calor; portanto, não pode ser misturado aos demais. Desta forma, o leite ácido não resistiria aos tratamentos térmicos utilizados pelas indústrias para fabricação de leite UHT. Por este motivo, o teste do alizarol é uma ferramenta de grande importância para diagnóstico, no campo, quanto à qualidade do leite.

A instabilidade do leite que caracteriza LINA apresenta algumas características, como não caracterizar acidez titulável elevada (acima de 18°D), permanecer com pH normal (6,6 - 6,8), negativo no teste e fervura, além do resultado positivo ao teste do álcool (ZANELA, 2004).

Alterações relacionadas à instabilidade protéica do leite foram relatadas em diferentes regiões do mundo, como no Japão (YOSHIDA, 1980) e na Itália (PECORARI et al., 1984, citadas por PONCE, 2000). Também há relatos de ocorrência no Irã (SOBHANI et al., 1998), em Cuba (PONCE, 2000), na Bolívia (ALDERSON, 2000), na Argentina (NEGRI et al., 2001), no Uruguai (BARROS et al., 2000) e no Brasil (BALBINOTTI et al., 2002).



## **Composição normal do leite**

Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA, 1953), em seu artigo 475, o leite é definido como um produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e ininterrupta de vacas sadias, sendo considerado normal aquele que atender às recomendações estabelecidas pela portaria número 5, de 24 de abril de 1980, do Ministério da Agricultura, a qual, reformulando os valores determinantes pelo RIISPOA para leite de mistura e “*in natura*”, regulamentou, no âmbito nacional, os padrões físico-químicos utilizados para julgamento do produto em questão: densidade a 15°C; 1,028 a 1,033; acidez em graus Dornic, 14 a 18°D; gordura, mínimo de 3,3%; sólidos não gordurosos, mínimo de 8,5%.

O leite é uma emulsão (mistura perfeita) de gotículas de gordura em água, com a caseína servindo como agente emulsificante. O leite de vaca é, em média, composto de água (87,3%), proteína (3,5%), gordura (3,8%), minerais e vitaminas. Sua fração protéica é constituída principalmente de caseína e lactoalbumina. Os minerais incluem cálcio, fósforo, ferro, sódio e potássio. As vitaminas incluem tiamina, riboflavina e niacina (vitaminas B1, B2 e B3, respectivamente) (BRITO e DIAS, 1998).

Na tabela 1, de acordo com FONSECA e SANTOS (2000), pode-se evidenciar a composição média do leite de vacas de diferentes raças e de acordo com a região, uma vez que vários fatores de manejo bem como alimentação podem influenciar a qualidade do leite.

TABELA 1- Composição (%) do leite de vacas de diferentes raças especializadas de regiões temperadas

Leite	Composição (%)				
	Proteína	Gordura	Cinzas	Lactose	EST*
Colostro	14.30	3.60	5.20	3.10	22.10
Holandesa	3.29	3.54	0.72	4.68	12.16
Jersey	3.98	5.13	0.77	4.83	14.42
Pardo-Suíço	3.64	3.99	0.74	4.94	13.08
Arshire	3.48	3.95	0.72	4.60	12.77
Guernsey	3.75	4.72	0.76	12.77	14.43

\*Extrato seco total.

Na tabela 2, de acordo com BRITO e DIAS (1998), evidenciam-se as concentrações médias de minerais e vitaminas no leite de bovinos.

TABELA 2, Concentrações médias de minerais e vitaminas do leite bovino

Mineral	mg/100 ml	Vitamina	mg/100 ml
Potássio	138	A	30,0
Cálcio	125	D	0,06
Cloreto	103	E	88,0
Fósforo	96	K	17,0
Sódio	58	B1	37,0
Enxofre	30	B2	180,0
Magnésio	12	B6	46,0

De acordo com GONZÁLES (2001), o leite é um fluido composto por uma série de nutrientes sintetizados na glândula mamária a partir de precursores

derivados da alimentação e do metabolismo, sendo secretado como uma mistura desses componentes e suas propriedades são mais complexas que a soma dos seus componentes individuais.

A composição do leite de vacas leiteiras varia de acordo com vários fatores, tais como raça, estação do ano, genética, estágio de lactação, sanidade e nutrição (BURCHARD e BLOCK, 1998).

### **2.1.1- Teor de gordura**

A gordura do leite está presente na forma de pequenos glóbulos, suspensos na fase aquosa. Cada glóbulo é envolvido por uma camada formada por um componente da gordura denominado fosfolipídio. Esta camada forma uma membrana que impede a união de todos os glóbulos. Desse modo, a gordura do leite é mantida na forma de suspensão (BRITO e DIAS, 1998).

O teor de gordura é fator que determina a quantidade de energia líquida direcionada à produção pelo animal (CARVALHO, 2000). A fração de gordura do leite serve como carreadora das vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), colesterol e outras substâncias solúveis em gordura, como os carotenóides (pró-vitamina A), que conferem ao leite a coloração amarelo-creme (BRITO e DIAS, 1998).

Admite-se que cerca de 50% da gordura do leite são produzidos na glândula mamária a partir dos precursores ruminais (CARVALHO, 2000).

A gordura é o componente de maior variabilidade no leite. De um modo geral, a gordura pode variar de 2,2 a 4,0%. Esta porcentagem é fortemente influenciada pela genética e fatores ambientais. Dentre os fatores ambientais, o manejo nutricional pode exercer uma influência muito importante na composição da gordura do leite (PINNA e FAJARDO, 2000).

De modo geral, a baixa porcentagem de gordura relaciona-se a dietas de alto teor de concentrados, que contribuiriam para instalação do quadro de acidose ruminal. Tradicionalmente, a relação entre excesso de concentrado e reduzido teor de gordura centraliza-se na alteração da proporção de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen. O aumento de concentrado eleva a produção de ácidos, concorrendo para a redução do pH ruminal. Sob pH ruminal inferior a 6,0 a degradação da fibra é prejudicada, diminuindo a produção de ácido acético em contraposição ao ácido propiônico, que aumenta. Sendo o ácido acético o principal precursor da gordura do leite, estaria explicada a relação (CARVALHO, 2000).

A baixa porcentagem de gordura do leite é um problema que ocorre quando quantidades superiores a 5,0 ou 6,0 kg de concentrados ricos em grãos são fornecidas para vacas em condições de pasto (STOCKDALE et al., 1987).

Considerando gordura, proteínas e lactose como os principais componentes do leite, a gordura é, sem dúvida, o componente de maior variação. Provavelmente, devido a esta variabilidade, foi o primeiro componente do leite a ser usado no pagamento do leite (BURCHARD e BLOCK, 1998).

### **2.1.2- Proteínas**

As proteínas são sintetizadas na glândula mamária a partir de compostos presentes no sangue, sendo os aminoácidos os principais precursores. Algumas proteínas, como as imunoglobulinas e albuminas séricas, podem passar diretamente do sangue para a glândula mamária. As proteínas predominantes são caseína, alfa-lactalbumina e beta-lactoglobulina, que representam mais de 90% das proteínas totais do leite, sendo a caseína

responsável por cerca de 80% das proteínas do leite e um dos determinantes do rendimento industrial na produção de queijo (CARVALHO, 2000).

A caseína é produzida pelas células secretórias da glândula mamária na forma de micelas, que são agrupamentos de várias moléculas de caseína junto com cálcio, fósforo e outros sais. Cerca de 95% da caseína total do leite estão nesta forma. As micelas de caseína, junto com os glóbulos de gordura são responsáveis por grande parte das propriedades relativas à consistência e à cor dos produtos lácteos (BRITO e DIAS, 1998). As proteínas lácteas aglutinam-se com o fosfato de cálcio coloidal, formando estruturas denominadas micelas de caseína (Figura 1), que são responsáveis pela estabilidade térmica do leite. As micelas de caseína apresentam duas regiões distintas, uma hidrofóbica (que não se mistura à água) e outra hidrofílica (que se mistura à água), sendo compostas por beta e alfa-caseína e kappa-caseína, respectivamente. Os principais fatores que afetam a estabilidade das micelas de caseína são a hidrólise enzimática da kappa-caseína, a temperatura, o pH, o excesso de  $\text{Ca}^{2+}$  e a adição de etanol.

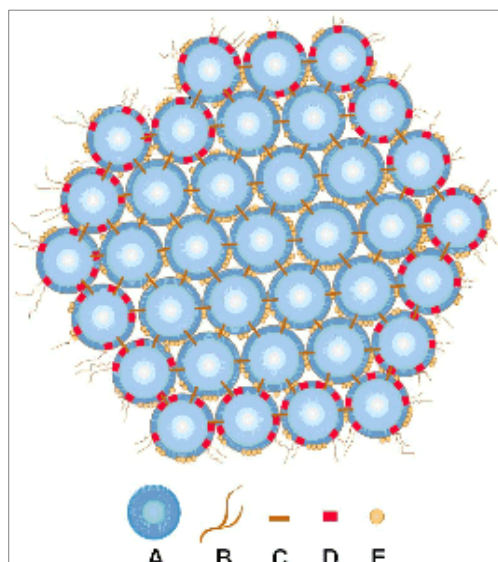


Figura 1. Micela (A: submicela, B: cadeias proteicas, C: fosfato de cálcio, D: kappa caseína, E: grupo fosfato). Fonte: [www.food-info.net/images/caseinmicelle.jpg](http://www.food-info.net/images/caseinmicelle.jpg)

O teor de proteína na dieta tem efeito muito pequeno sobre o teor protéico do leite. Trabalhos (BRITO e DIAS, 1998; CARVALHO, 2000) tem indicado que, para cada 1% de aumento de proteína da dieta animal, contendo entre 9 e 17% de proteínas, haverá aumento da ordem de 0,02% nas proteínas do leite. Pode-se dizer que a variação no teor protéico afeta muito mais a produção de leite do que sua composição.

### 2.1.3- Lactose

A lactose, principal glicídeo do leite, é produzida pelas células epiteliais da glândula mamária e é a principal fonte de energia dos recém-nascidos. Além da lactose, podem ser encontrados no leite outros glicídeos, como a glicose e a galactose, mas em pequenas quantidades (GONZÁLEZ, 2001). Segundo BRITO e DIAS (1998), embora seja um açúcar, a lactose não tem sabor doce,

como a sacarose da cana-de-açúcar. No processamento do leite, a lactose é a base para produtos fermentados, como, por exemplo, o iogurte. A lactose compreende cerca de 52% dos sólidos do leite desnatado e 70% dos sólidos encontrados no soro do leite (GONZÁLEZ, 2001).

A lactose é um dos principais determinantes do volume de leite, pois ela é responsável por 50% da pressão osmótica deste e, assim, controla seu volume de água. Dessa forma, a enzima lactose sintetase apresenta importante função no controle do volume do leite. Essa enzima é composta de duas subunidades, lactoalbumina e galactosiltransferase. Variações genéticas na lactoalbumina podem ser indicadores do potencial genético de produção (LARANJA e SANTOS, 2000). A concentração da lactose no leite é de aproximadamente 5%, e é um dos elementos mais estáveis do leite, isto é, menos sujeito a variações (PERES, 2001; BRITO e DIAS, 1998).

Há decréscimo de cerca de 10% no leite proveniente de vacas com mastite em relação ao leite normal. Considerando que a lactose desempenha papel fundamental para o equilíbrio osmótico do leite em relação ao sangue, é certo que também ocorre um mecanismo de compensação para restabelecer este equilíbrio osmótico através do aumento da passagem de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), o que determinará aumento da condutividade elétrica do leite e aparecimento de sabor salgado no leite (FONSECA e SANTOS, 2000).

#### **2.1.4- Densidade**

A densidade do leite é uma relação entre o seu peso e volume. Normalmente é medida a 15°C ou corrigida para esta temperatura, sendo os valores normais médios de densidade situados entre 1.028 e 1.033 g/mL (BRITO e DIAS, 1998). No entanto, variações individuais normais podem ser

observadas, com valores entre 1.024 e 1.036 g/mL (FONSECA e SANTOS, 2000).

### **2.1.5- Acidez**

A acidez pode ser medida por dois parâmetros: pH entre 6,5 e 6,7 ou em graus Dornic 14-18 °D. Podendo ser avaliada por meio da determinação do seu pH, em aparelhos apropriados, ou por métodos de titulação. Neste caso, sendo expressa em graus Dornic (°D), a qual é adotada pela legislação brasileira, que considera normal o leite com acidez titulável entre 14 e 18°D (BRITO e DIAS, 1998; FONSECA e SANTOS, 2000).

Esta acidez titulável do leite (denominada também de acidez aparente) resulta da presença de CO<sub>2</sub>, fosfatos, citratos, caseína e de outros constituintes de menor importância do leite. Estes compostos estão presentes na porção aquosa (soro) do leite e fazem parte dos “sólidos não gordurosos” (BRITO e BRITO, 1999).

A acidez pode ser afetada por alguns fatores como a raça (algumas raças como a Jersey produzem leite com acidez natural mais elevada, em função da composição do leite); o período de lactação, já que o colostro possui acidez elevada, podendo chegar até 44°D, entretanto, passados quatro a seis dias da parição, a acidez é normalizada e no decorrer da lactação permanece constante, embora possa haver variações individuais e nos quadros de mastite, já que o leite de vacas com mastite apresenta maior teor de íons sódio e menores teores de cálcio, fósforo e potássio. Nesses casos o pH tende a ficar alcalino, portanto, com menor acidez titulável (OLIVEIRA et al., 1999).



### **2.1.6- Contagem de células somáticas do leite**

As células somáticas do leite são primariamente leucócitos ou células brancas do sangue, as quais incluem macrófagos, linfócitos e neutrófilos (HARMON, 1998). Em animais sadios, 65% a 70% do total de células somáticas são células de origem epitelial, enquanto esse número cai para 50% em animais com mastite, e avança valores ainda mais baixos (10% a 45%) em casos mais severos (FONSECA e SANTOS, 2000). Durante o processo de mastite, o aumento na CCS é devido ao afluxo de neutrófilos para a glândula mamária a fim de combater a infecção e por este fato é um dos parâmetros mais usados para avaliação da saúde do úbere e da qualidade do leite (DÜRR et al., 2001).

A CCS do leite normal originado de animais sadios é normalmente menor que 300.000 células/mL de leite. Entretanto, quando há invasão do úbere por bactérias, ocorre resposta inflamatória que causa grande aumento das células somáticas presentes no leite. Níveis acima de 300.000 células/mL indicam condição anormal no úbere. Deve-se ressaltar que a principal causa do aumento da CCS é a presença de inflamação na glândula mamária, que geralmente está associada ao surgimento de patógenos, ainda que outros fatores, como idade do animal, estágio da lactação e estação do ano possam ter efeito indireto na CCS (FONSECA e SANTOS, 2000).

As alterações ocorridas no leite proveniente de vacas com mastite conduzem à diminuição do valor nutritivo dos produtos lácteos, especialmente em relação aos teores de cálcio. Além disso, o leite adquire sabor salgado devido ao aumento dos níveis de sódio e cloretos, e da queda no percentual de lactose (KITCHEN, 1981). O leite é um excelente meio de cultura para multiplicação de microrganismos. Quando alguns tipos de microrganismos

crecem no leite e produzem ácido láctico, a caseína é precipitada e o leite coagula.

O quadro de inflamação da glândula mamária determina uma série de alterações tanto na composição como nas características físico-químicas do leite produzido (OLIVEIRA et al., 1999). Pode-se atribuir estas alterações nas características do leite a três fatores principais: alterações na permeabilidade vascular devido ao processo inflamatório; lesão do epitélio secretor responsável pela síntese de alguns componentes específicos do leite e ação de enzimas de origem das células somáticas e microrganismos presentes no leite (DÜRR et al., 2001).

## **2.2- Leite instável não ácido (LINA)**

As causas da instabilidade não estão totalmente esclarecidas. Há indicações de que silagens com elevado teor de fibra e excesso de concentrados protéicos, fatores capazes de alterar o equilíbrio cálcio-magnésio, podem ocasionar reações positivas à prova do álcool (VELLOSO, 1998).

Segundo BARROS (2001), as variações na estabilidade do leite têm sido relacionadas a dietas ou pastos ricos em cálcio, com deficiências ou desequilíbrios minerais (Ca, P, Mg) e a mudanças bruscas da dieta. PONCE CEBALLO & HERNÁNDEZ (2001) citam que, nos quadros de leite instável, as limitações de energia disponível no tecido epitelial mamário afetam a síntese e secreção dos componentes lácteos, levando à instabilidade. Esses autores denominaram LINA ao conjunto de alterações nas propriedades físico-químicas do leite, que causam transtornos no processo de elaboração e na qualidade final de derivados lácteos, associados a transtornos fisiológicos metabólicos ou nutricionais.

Para estabelecer um caso de LINA, a acidez titulável deve ser igual ou inferior a 18°D, com a maioria das amostras dentro da faixa normal de acidez (14 a 18°D) (ZANELA, 2004).

De acordo com PONCE E HERNÁNDEZ (2001), este quadro refere-se a um conjunto de alterações nas propriedades físico-químicas do leite, caracterizadas por diminuição dos sólidos totais, da estabilidade térmica e da capacidade tamponante, que causam transtornos nos processos de elaboração de derivados lácteos, no seu rendimento e/ou na sua qualidade final.

No Brasil, a incidência de LINA ainda carece de diagnóstico devido à escassez de trabalhos de pesquisa (RIBEIRO et al., 2006).

Em estudos realizados por BALBINOTTI et al. (2003), foi avaliada a ocorrência de leite instável na região Sul do Rio Grande do Sul. Nestes estudos, os pesquisadores avaliaram 3.353 amostras de leite quanto à prova do álcool alizarol (76%) e acidez titulável, onde obtiveram como resultados a grande maioria (72%) das amostras positivas à prova do álcool apresentando acidez titulável normal, caracterizando que a instabilidade observada no estudo não tinha origem na presença de ácido láctico.

Em 2004, ZANELA, ao analisar 2.396 amostras de leite provenientes da região noroeste do Rio Grande do Sul, nos meses de setembro de 2002 até agosto de 2003, verificou que 53% das amostras apresentavam o LINA.

ROMA JUNIOR et al. (2010) realizaram estudos em que 2.981 amostras foram coletadas nos Estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, foram analisadas no período de outubro de 2005 a setembro de 2006. Nestes estudos, os pesquisadores consideraram como LINA as amostras que coagulavam à prova do álcool (78%) e apresentavam acidez titulável menor

que 18°D e pH acima de 6,6. Como resultado, os pesquisadores verificaram que 222 amostras foram classificadas positivas para o quadro (7,4%).

No mesmo experimento, os autores avaliaram os períodos de maior incidência, obtendo como resultado os meses de março e agosto de 2006. Os pesquisadores atribuíram tal resultado pelo fato de haver uma relação direta entre a incidência de LINA e a nutrição animal, onde normalmente ocorre maior incidência no início do outono (março) e a queda da incidência a partir do início da primavera (setembro), fato este explicado pela estacionalidade de produção e qualidade das forrageiras nas épocas citadas.

Conforme descrito por MARQUES em 2003, as pastagens representam a fonte de alimento mais importante para produção de leite no Brasil, assim, a produção dos rebanhos depende, diretamente, da produção de forragens. O mesmo autor comenta que no Brasil, existem duas estações climáticas bem definidas, que afetam diretamente a produção de forragem: as águas e a seca. Na estação das águas, as condições de umidade, temperatura e luminosidade são geralmente favoráveis ao crescimento das espécies tropicais. Por sua vez, os mesmo fatores climáticos, durante a estação da seca, quase sempre são adversos ao crescimento dessas espécies. Como consequência, ocorre uma marcante estacionalidade anual na produção de forragem e na disponibilidade de leite bovino.

### **2.2.1- Composição e características físico-químicas do LINA**

Em 2006, OLIVEIRA & TIMM analisaram 282 amostras de leite obtidas na Região Sul do Brasil, conflitando as amostras com instabilidade (LINA) com amostras normais. Neste estudo, o componente do leite que apresentou maior variabilidade foi a gordura, havendo um aumento significativo da média dos

teores de gordura do leite normal (3,04%) em relação ao LINA (3,30%). Por outro lado, o leite normal apresentou teores médios de lactose (4,33%) significativamente mais elevados que a média de lactose do LINA (4,16%). MARQUES et al. (2007) verificaram um aumento significativo nos níveis de gordura ao compararem os valores apresentados pelo leite normal (3,52%) com os do LINA (3,62%). O mesmo autor, em estudo, relata que o LINA afetou a composição química do leite, com diminuição dos teores de proteína e lactose. Os valores de acidez foram considerados normais. Não foram observadas diferenças significativas quanto aos teores de fósforo, magnésio, glicose, albumina, proteínas totais, triglicerídios e colesterol de vacas produzindo leite estável e LINA em estudo conduzido por ABREU, (2008).

Nesse mesmo estudo, não foram observadas diferenças significativas na contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), densidade, acidez titulável, produção de leite, uréia e crioscopia do leite estável com relação ao LINA. PONCE E HERNANDEZ em 2001 observaram aumento nos teores de gordura e diminuição das concentrações de lactose após a reprodução experimental de um quadro de LINA. MARQUES em 2004, obteve de forma semelhante em seu experimento, queda nos níveis de lactose, sendo que os valores médios obtidos para o leite normal e LINA foram respectivamente 4,42% e 4,32%.

Entretanto, ZANELA et al. (2006), obtiveram uma tendência de aumento no teor de gordura do LINA, porém com valores estatisticamente não significativos. Anos antes, em 1998, SOBHANI, et al., não encontraram diferença significativa para variação da gordura no leite instável ao álcool, porém a lactose, para este tipo de leite, apresentou valores inferiores quando comparados com os do leite normal.

Uma alimentação rica em fibras explicaria as alterações das composições observadas e, desta forma, levantaria a hipótese da ligação deste tipo de alimentação com a instabilidade da caseína, possivelmente através de desequilíbrios minerais que provocariam alterações iônicas do leite (OLIVEIRA e TIMM, 2006).

A composição do leite com caseína estável é sugestiva, devido aos mecanismos metabólicos mencionados, de que os animais que o produziram tenham recebido suplementação com concentrados, em geral melhor balanceados, o que permitiria a produção de leite com equilíbrio iônico normal e com caseína estável.

VIERO (2008) relata a importância de se avançar nas pesquisas sobre os fatores relacionados com a incidência de LINA, a partir de idéias de causas multifatoriais, considerando que o problema tem interferência relevante sobre a atividade, gerando perdas econômicas graves em ambos os pontos da cadeia produtiva, tanto a indústria que deixa de receber uma grande quantidade de leite, por se apresentar abaixo dos padrões preconizados, assim como do produtor, que deixa de entregar a matéria prima, determinando redução de ganhos das propriedades rurais.

#### **2.2.1.1- Cálcio iônico e fosfato**

Em estudo realizado por BARROS (2001), o mesmo relata que o teor de cálcio ionizado está diretamente relacionado à positividade da prova do álcool, onde encontrando-se também variações em outros componentes do leite.

VELLOSO (1998) comenta que as causas não estão totalmente elucidadas, mas existem indicações de que silagens com elevado teor de fibra

e excesso de concentrados protéicos, estes capazes de afetar o equilíbrio cálcio-magnésio, podem ocasionar reações positivas à prova do álcool.

Segundo BARROS (2001), variações na estabilidade do leite têm correlação com dietas ou pastos ricos em cálcio, deficiência ou desequilíbrios minerais (Ca, P, Mg) e mudanças bruscas da dieta.

No início e final de lactação ocorre aumento na concentração de proteínas do leite. As concentrações de cálcio e fósforo também se mostrarão aumentadas, gerando desta forma um desequilíbrio salino (SILVA e ALMEIDA, 2010).

SOMMER E BINNEY (1923) citados por HORNE E PARKER (1981), relataram que em qualquer pH, a adição de cálcio diminuía a estabilidade do leite ao etanol. Estes verificaram ainda que, a adição de magnésio se comporta de forma semelhante à adição do cálcio. Ainda verificaram no mesmo estudo que a adição de citrato, fosfato e EDTA reduzem a disponibilidade de cálcio total no leite proporcionando uma maior estabilidade do leite ao etanol.

#### **2.2.1.2- Outros minerais**

HORNE E PARKER (1981), demonstraram que adição de pequenas quantidades de Ca e Mg tornaram o leite instável ao etanol, enquanto citrato e fosfato tiveram efeito contrário. Neste trabalho, os pesquisadores em experimento com Mg, mostraram que seus efeitos sobre a estabilidade do leite ao etanol são semelhantes àqueles do Ca.

Os leites instáveis ao álcool caracterizam-se por terem uma alta relação força iônica/caseína e os leites estáveis caracterizam-se por ter esta relação mais baixa. Este fato é afirmado por HORNE (1987) que evidenciou que o aumento da força iônica do leite através da agregação de NaCl, diminuía

linearmente a estabilidade. O mesmo pesquisador, também demonstrou que a extração de caseínas provoca o mesmo efeito.

Entre os valores que modificam a concentração de Cl, Na e K no leite, pode-se mencionar que Cl e Na apresentam valores elevados em leites produzidos por vacas no começo e final de lactação, e o K decresce ao avançar da lactação (FOX E McSWEENEY, 1998).

### **2.2.2- Época do ano**

BARROS et al. (2001) afirmam que tem sido constatada uma certa influência da época do ano sobre a estabilidade do leite na prova do álcool, sendo a alteração, aparentemente mais freqüente nos meses de outono, na mudança de estação de inverno para primavera e também relacionada com períodos de seca. LOPES (2008) e ROMA et al. (2010) relataram que os períodos de maior incidência de LINA compreendem os meses de março e agosto. Os resultados foram atribuídos ao fato de haver uma relação direta entre incidência de LINA e a nutrição animal, onde ocorreu sua maior incidência no outono e menor na primavera. Este fato pode ser explicado pela fase estacionária de produção e qualidade das forragens entre os períodos citados.

ZANELA em 2004 demonstrou em estudo, uma menor ocorrência de LINA no outono/inverno. Talvez esteja relacionado ao uso do azevém (*Lolium multiflorum*), costumeiramente plantado nas lavouras de soja após sua colheita, o que ocasionaria um aumento de disponibilidade de forragem de boa qualidade para as vacas de leite durante essa época do ano.



### **2.2.3- Nutrição**

SOBHANI et al. (1998) avaliaram 20 vacas da raça Holandês, sendo que a metade apresentava reação positiva ao teste do álcool. Segundo esses autores, o baixo nível de glicose sangüínea poderia ser a causa desta alteração. Foi encontrada uma diminuição significativa na taxa de lactose do leite das vacas com instabilidade ao etanol (PONCE & HERNANDEZ, 2001).

Em estudo conduzido por ZANELA et al. (2006), a restrição alimentar de 40%, nas exigências nutricionais de matéria seca, proteína e energia, aumenta a ocorrência de leite instável não-ácido em vacas Jersey, quando se utiliza álcool 76% na avaliação da instabilidade.

PONCE E HERNÁNDEZ (2001) relatam que a instabilidade do leite pode ser ocasionada devido às limitações de energia disponível no tecido epitelial que por sua vez comprometem a secreção dos componentes lácteos. No entanto considerando somente os fatores que causam alterações na composição do leite numa mesma espécie animal torna-se plausível a associação do LINA com a alimentação do gado.

### **2.2.4- Estágios de lactação**

De acordo com NEGRI et al. (2002), não foi possível estabelecer uma relação entre estágio de lactação e estabilidade. Entretanto, BARROS (2002) verificou relação positiva entre esses dois fatores, uma vez que constatou maior freqüência de amostras instáveis no início e no fim da lactação.

### **3. OBJETIVO**

O presente trabalho teve como objetivo determinar a ocorrência de leite instável não ácido na micro-bacia leiteira de São José da Bela Vista, localizada no município de Conceição do Castelo, ES.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

As amostras de leite foram coletadas em propriedades leiteiras fornecedoras de uma agroindústria de queijos, localizada em São José da Bela Vista, uma das principais bacias leiteiras do município de Conceição do Castelo-ES. O volume médio de captação diária, na época de coleta era em torno de 700 litros/dia.

O transporte de leite até a indústria foi realizado por meio de veículo dotado de tanque isotérmico de inox, o leite foi coletado, diariamente, em 20 propriedades caracterizadas pela mão-de-obra familiar. Foi incluída uma propriedade localizada em distrito vizinho devido à suspeita do proprietário de ter animais que apresentaram leite reagente ao teste do alizarol durante toda lactação.

Todas as amostras reativas, foram imediatamente armazenadas em caixas térmicas, com gelo reciclável no intuito de baixar a temperatura evitando assim a proliferação bacteriana. Essas amostras foram imediatamente enviadas aos laboratórios para análises e posterior interpretação.

O laticínio é caracterizado conforme o Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo (IDAF) como Agroindústria Artesanal Familiar Rural e destina sua produção à fabricação de queijos, processando principalmente queijos meia cura, apesar de incluir outros tipos de produtos como, queijo Minas frescal, Puíña e alguns queijos condimentados.

### **4.1- Coleta de amostras**

As coletas de amostras foram iniciadas no mês de abril de 2010, sendo finalizadas no mês de julho do mesmo ano com a finalidade de constatar a

presença de LINA no período de seca normalmente caracterizada nesta época na região.

Previamente ao início das coletas, a agroindústria forneceu a relação de produtores, bem como as rotas que o veículo faria diariamente. A partir destas informações, foi montada uma planilha, caracterizando cada produtor em sua respectiva rota.

As amostras foram coletadas nas propriedades sempre após a realização do teste do álcool alizarol (76%), na quantidade de 30 mL, em frascos plásticos. O leite coletado foi acondicionado em dois frascos contendo duas pastilhas cada de conservante Bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) para envio ao Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), MG e outro frasco, estéril e sem conservante, para envio ao Laboratório de Microbiologia Veterinária da Universidade de Vila Velha (UVV), ES.

As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo e enviadas aos respectivos laboratórios no prazo máximo de 12 horas após a última coleta.

Nas amostras encaminhadas ao Laboratório de Nutrição Animal da UFV foram realizadas análises para determinação de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e contagem de células somáticas (CCS).

Nas demais, enviadas ao Laboratório de Microbiologia Veterinária da UVV, buscaram-se determinar a acidez ( $^{\circ}$ Dornic) e a contagem bacteriana total (CBT).

As amostras instáveis à prova do álcool (76%), também foram encaminhadas para ambos os laboratórios, mantendo a mesma metodologia das coletas rotineiras mensais.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o estudo, foram analisadas 248 amostras, no período de abril a julho de 2010. O período foi escolhido a devido ser caracterizado por menor índice pluviométrico na região.

Conforme FONSECA e SANTOS (2002) a estabilidade do leite está relacionada com a capacidade do leite resistir à coagulação pelo calor, portanto, reflete diretamente a sua qualidade e adequação ao processo industrial.

No mês de abril, foram coletadas 60 amostras, sendo que, no dia da amostragem, quatro amostras mostraram-se reativas ao álcool alizarol 76%, totalizando 6,7% das amostras. No mês seguinte, foram coletadas 62 amostras, sendo que, no dia da amostragem, seis delas mostraram-se reativas ao álcool alizarol 76%, totalizando 9,7% das mesmas.

Em junho, foram coletadas 63 amostras, dentre as quais, não houve caso de reação a prova do álcool alizarol 76%. Já no mês de julho, foram coletadas 63 amostras, sendo que, no dia da amostragem, duas mostraram-se reativas ao álcool alizarol 76%, totalizando 3,1% das amostras, conforme Tabela 3.

TABELA 3 – Número de amostras estáveis e instáveis

MÊS	AMOSTRAS NORMAIS (Número)	AMOSTRAS REATIVAS (Número)	OCORRÊNCIA (%)
Abril	60	04	6,7
Maio	62	06	9,7
Junho	63	0	0
Julho	63	02	3,1
<b>TOTAL</b>	<b>248</b>	<b>12</b>	<b>4,8</b>

Em nenhuma das amostras submetidas à fervura ocorreu precipitação ou coagulação do leite. Juntamente à coleta, avaliou-se as possíveis causas da instabilidade à prova do álcool, como alteração de manejo, retirada ou inclusão de um novo volumoso, troca de piquetes, fornecimento de concentrado (inclusão, alteração ou mesmo aquisição de um novo lote), período de lactação, alteração da ordenha ou mesmo do ordenhador, com a intenção de evitar mascarar algum resultado.

A maioria das amostras de leite com instabilidade à prova do álcool apresentou acidez titulável acima de 20°, caracterizando o acúmulo de ácido láctico. A contagem bacteriana total (CBT – UFC/mL) destas amostras resultou em altos valores, justificando a titulação acima dos padrões normais. A acidez do leite avaliada foi expressa em graus Dornic (°D), a qual é adotada pela legislação brasileira, que considera normal o leite com acidez titulável entre 14 e 18°D (BRITO e DIAS, 1998).

A prova do álcool tem objetivo de estimar a estabilidade do leite por meio da reação com uma solução alcoólica. O teste é uma prova rápida que permite medir a termoestabilidade do leite ao calor e desta forma, saber se este resiste ao processo de pasteurização, evitando assim a coagulação durante todo o processo (TRONCO, 1997).

Esta acidez titulável do leite (denominada também de acidez aparente) resulta da presença de CO<sub>2</sub>, fosfatos, citratos, caseína e de outros constituintes de menor importância do leite. Estes compostos estão presentes na porção aquosa (soro) do leite e compõem os “sólidos não gordurosos” (BRITO e BRITO, 1999).

A implicação usual de altos níveis dos valores obtidos em °D, é que as amostras coletadas continham altos níveis de ácido lático. A causa mais provável disso, após visita as propriedades e avaliação do manejo empregado por estas, é a conversão do açúcar (lactose) a ácido lático devido à grande carga bacteriana.

A acidez sofre influência de alguns compostos presentes como dióxido de carbono, proteína, fosfatos e citratos, sendo a concentração destes são diretamente proporcionais à acidez observada.

Autores relatam que a concentração dos constituintes que influenciam a acidez é variável, não havendo, padrão fixo que possa ser considerado normal na ausência de ácido lático produzido por bactérias. Assim, seriam necessárias análises rotineiras que permitissem a comparação de cada propriedade.

O leite ácido e positivo para o teste do álcool pode ter ocorrido em decorrência de falhas no manejo de ordenha ou refrigeração ineficiente, a quais

resultam em maior contagem bacteriana, maior acidez e aumento da atividade de enzimas proteolíticas, que agem degradando o leite.



## 6. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no presente trabalho ressaltam a importância da pesquisa com a instabilidade à prova do álcool alizarol, quantificando-a e disponibilizando dados para cálculo de impacto econômico do problema da região estudada.

O que ficou ressaltado é que não houve caracterização do LINA, por vários fatores correlacionados: falha de manejo através dos resultados de alta contagem bacteriana nas amostras, o período do estudo não caracterizou-se como seca devido seu índice alto pluviométrico, possível interferência dos produtores devido a coleta de amostras rorineiras e falta de estudos e dados comparativos da região.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. S. de. Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey. 111f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissertação de mestrado em Produção Animal. Porto Alegre, 2008.

AULDIST, M. J.; HUBLLE, I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Aust. J. Dairy Technol*, v. 53, p. 28-36, 1998.

BALBONITI, M.; MARQUES L.T.; FISCHER, V. et al. Incidência do leite instável e não ácido (LINA) na região sul do Rio Grande do Sul. Anais do XII Congresso de Iniciação Científica da UFPel. Pelotas: Editora UFPel, 2003.

BARROS, et al. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite - Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Ed. Da UFRGS, 2006, p. 44-57.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: USO do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas. Porto Alegre – RS: Gráfica UFRGS, 2001. p. 44-57.

BRITO, M. A . V. P.; BRITO, F. R. F.; Diagnóstico microbiológico de Mastite. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, Circular técnica nº 55. 26p. 1999.

BRITO, J. R. F; DIAS, J.C. ed. A Qualidade do Leite. Juiz de Fora: EMBRAPA/SP: TORTUGA, 88p. leite, Qualidade; 1998.

BURCHARD, J.F. e BLOCK, E. Nutrição do gado leiteiro e composição do leite. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do leite. p. 16-19. 1998.

CARVALHO, M. P. Influencia da Alimentação na Qualidade e composição do Leite; In: MINAS LEITE. 2., 2000, Juiz de Fora. Avanços Tecnológicos para o aumento da produtividade leiteira. Anais: Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 94p. 2000.

CERQUEIRA, M.M.O.P, et al., Características microbiológicas do leite cru e beneficiado em Belo Horizonte (MG). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 46, n. 6, p. 713-721, 1994.

DONATELE, D. M.; VIEIRA, L. F. P.; FOLLY, M. M. Relação do teste de Alizarol a 72% (v/v) em leite in natura de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. Higiene Alimentar. v.17. p. 95-100, 2003.

DÜRR, J.W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo – RS: UFP, 2004, p. 23-51.

DÜRR, J.W., FONTANELI, R.S. & MORO, D.V.. Determinação laboratorial dos componentes do leite. In: Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Gráfica da Universidade Federal do rio Grande do Sul, Porto alegre. p. 23-29. 2001.

FISCHER, V. Incidência, caracterização, quadro experimenta e tratamento do leite instável não ácido (Lina) no Rio Grande do Sul. Relatório técnico final das atividades desenvolvidas relativas ao projeto. 474974/2003-0. 2005. 70p.

FISCHER, V. et al. Chemical composition of unstable non-acid Milk. INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE BIOLOGY OF LACTATION FARM ANIMALS. Revista de Ciências Veterinárias. Pirassununga, SP, v. 4. n. 4. s.1, p.52, 2006.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. Qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo: Lemos editorial, p.161. 2000.

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

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

FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. Dairy chemistry and biochemistry. London: Blackie Academic & Professional, 1998, 478 p.

GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Gráfica da Universidade Federal do rio Grande do Sul, Porto alegre. P. 05-22. 2001.

GUO, M.; WANG, Z.; LI, J.; KINDSTEDT, P. Ethanol stability of goat's milk. International Dairy Journal, Amsterdam, v. 8, p. 57-60, 1998.

HOLT, C. An equilibrium thermodynamic model lft he sequestration of calcium phosfate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk. European Biophysics Journal. V. 33, p. 421- 434, 2004.

HORNE, D.S.; PARKER, T.G. Factors affecting the ethanol stability of bovine-milk. I. Effect of serum phase components. Journal of Dairy Research, v.48, p.273-284, 1981.

LOPES, L. C., Composição e Características Físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na Região de Casa Branca, Estado de São Paulo. Faculdade

de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP. Dissertação de Mestrado. Pirassununga – 2008.

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

MARQUES, L.T.; BALBINOTTI, M.; FISCHER, V.; STUMPF J.W.; et al. Avaliação da estabilidade de leite à prova do álcool e da acidez titulável em diferentes meses e regiões na bacia leiteira de Pelotas.. In: *Anais do XXXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Santa Maria: SBZ, 2003.

MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo – RS : Editora Universitária, 2004, p. 11-37.

NEGRI, L. et al. Aptitud de La prueba del alcohol para predicir la estabilidad térmica de la leche cruda. In: *25º Congreso Argentino de Producción Animal*. Buenos Aires, 2002.

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

OLIVEIRA, C.A.F; FONSECA, L.F.L. e GERMANO, P.M.L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. *Higiene Alimentar*. v. 13. n. 62. p. 10-16. 1999.

PECORARI, M.; FOSSA, E.; AVANZINI, G.; MARIAN, P. Milk with abnormal coagulation: Acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. *Sci. Tec. Latt-Cas.*, v. 4, p. 263-278, 1984.

PERES, J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional: Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. *Gráfica da Universidade Federal do rio Grande do Sul, Porto alegre*. p. 30-45. 2001.

PETROVSKI, K. & STEFANOV, E. Milk composition changes during mastitis. *Milkproduction.com*. DeLaval, 2006. Disponível em: <[http://www.milkpodution.com/Library/Articles/Milk\\_composition\\_changes\\_during\\_mastitis.htm](http://www.milkpodution.com/Library/Articles/Milk_composition_changes_during_mastitis.htm)>

PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. Vencendo a luta contra a mastite. Ed. Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002.

PINNA, M.H, FAJARDO. R.S.L; Leite com Qualidade. *Revista, Conselho Federal de Medicina Veterinária*. n. 21; pg 47-52; 2000.

PONCE, P. C. Garantí de la calidad de la leche: Enfoques actuales y perspectivas en América latina. *III Taller internacional sobre calidad de la leche*. Universidad Austral de Chile, Valdivia-Chile, p.11, 1996.

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

PRATA, L. F. **Fundamentos de ciência do leite**. São Paulo: Unesp, 1998. 119 p.

RIBEIRO, M.E.R.; KROLOW, A.C.R.; BARBOSA, R.S. et al. Ensaio preliminares sobre o efeito do Leite Instável Não Ácido (LINA) na industrialização do iogurte batido. In: 9º Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Goiânia-GO: Gráfica e Editora Talento, 2006.

ROMA JUNIOR, L.C.; ZAGO, C.A.; RODRIGUES, A.C.O.; et al. Estudo da proteína do leite em termos de qualidade e quantidade. Disponível: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p044.pdf>>, Acesso: 18 jul. 2010.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Importância e efeito de bactérias psicotróficas sobre a qualidade do leite. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 15, n. 82, p. 13-19, 2001.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. 1.ed. Barueri: Manole, 2007.

SILVA, P.H.F. & ALMEIDA, M.C.F. **Estabilidade térmica do leite**. Artigo PH1-1. 8 p. Atrius. Disponível em: <<http://www.atruius.com.br/download.html>>. Acesso em: 15 de agosto de 2010.

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

TRONCO, V.M. Manual para inspeção da qualidade do leite. Ed: Universidade de Santa Maria, 1997.

VELLOSO, C.R.V. Noções básicas de acidez. In: BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. A qualidade do leite. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL; São Paulo: Tortuga, p. 37-45, 1998.

VIERO. V. Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido. 2008. 91 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.

WALDNER, D. N. et al. Managing milk composition: normal sources of variation. Oklahoma Cooperative Extension Service. Oklahoma State University. Disponível em: <[HTTP://www.osuextra.okstate.edu/pdfs/F-4016web.pdf](http://www.osuextra.okstate.edu/pdfs/F-4016web.pdf)> Acesso em 30 set 2010.

ZANELA, M. B. Caracterização do leite produzido no Rio Grande do Sul, Ocorrência e indução experimental do leite instável não ácido (LINA). 2004, 175 f. Tese (Doutorado em Produção Animal). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2004.

ZANELA, M. B. Indução e reversão do leite instável não ácido (LINA). Congresso Pan-Americano de Leite, 9º, 2006, Porto Alegre, Anais, p. 439- 442.