

## RELAÇÃO ENTRE ALIMENTAÇÃO E A ESTABILIDADE DO LEITE BOVINO

FISCHER, V.<sup>1</sup>; ZANELA, M.B.<sup>2</sup>; RIBEIRO, M.E.R.<sup>2</sup>; MARQUES, L.T.<sup>3</sup>; ABREU, A.S.<sup>4</sup>;  
MACHADO, S.C.<sup>5</sup>; FRUSCALSO, V.<sup>6</sup>; BARBOSA, R.S.<sup>7</sup>; STUMPF, M.T.<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Profa. Faculdade de Agronomia – UFRGS, <sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Clima Temperado; <sup>3</sup> Méd. Veterinária, Dra.; Méd. Veterinário, <sup>4</sup>MSc., Prof. Unisul, Tubarão, SC; <sup>5</sup>Méd. Veterinário, Dr., prof. FAI, Itapiranga, SC; <sup>6</sup>Eng Agrônomo, Emater, MSc.; <sup>7</sup>Méd. Veterinária, Dra. Prof. UNIC/MT; <sup>8</sup>Eng. Agrônomo, mestrando Pg Zoot. UFRGS

A falta de estabilidade do leite é um problema sério e prevalente em diversas bacias leiteiras do Brasil (Marques et al., 2007; Lopes, 2008; Zanela et al., 2009; Machado, 2010; Oliveira et al., 2011). Trata-se um problema multifatorial cujos fatores intervenientes são relacionados à execução do teste (concentração do álcool), manejo (alimentação, clima, relação homem-animal), ao animal (suscetibilidade ao estresse, potencial produtivo, estágio da lactação, sanidade, problemas digestivos e metabólicos, frações da caseína), entre outros.

Dentre os fatores estudados, a presente palestra abordará os efeitos da alimentação sobre a estabilidade do leite. De forma geral, a restrição alimentar provocada pela redução de 40 a 50% da quantidade de alimento oferecida diminui a produção leiteira, aumenta a frequência da ocorrência do LINA e/ou reduz a concentração mínima de etanol necessária para induzir a coagulação do leite (Zanela et al., 2006; Fruscalso, 2007 e Zanela et al., 2009).

No entanto os efeitos da restrição alimentar sobre a composição química do leite são variáveis: houve trabalhos que não mostraram efeito sobre os componentes do leite (Fruscalso, 2007 e Zanela et al., 2006a), enquanto outros mostraram reduções acentuadas do percentual de componentes (Zanela et al., 2006b). Nos primeiros estudos, foram retiradas quantidades proporcionais de concentrado e volumoso, o que não ocorreu no último estudo, onde a restrição alimentar foi causada pela remoção de todo o concentrado, o que alterou mais o aporte de nutrientes.

Tabela 1 – Médias da composição química do leite, características físicas e contagem de células somáticas do tratamento controle (T100) e da restrição alimentar (T60) (Zanela et al., 2006a)

Componentes	T100	T60	P=F
% Gordura	5,49	5,25	NS
% Proteína bruta	4,02	3,88	NS
% Caseína	2,96	2,88	NS
% Lactose	4,43	4,45	NS
% Sólidos Desengordurados	9,43	9,30	NS
% Sólidos Totais	15,14	14,71	NS
CCS (x 1.000 células/mL leite)	259	446	NS
LINA (1- Lina, 0 – normal)	0,06	0,42	0,0365
Álcool (76%) (reação 1 a 5)	1,16	1,81	0,0709
Acidez titulável (°D)	19,71	18,38	0,0449
pH	6,66	6,68	0,0363
Crioscopia (°H)	-0,541	-0,543	NS

\* CCS = contagem de células somáticas

NS = não significativo

Tabela 2 - Valores médios de acordo com o nível de oferta da dieta sobre os aspectos físicos e composição química do leite (Fruscalso, 2007)

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>		P<F	CV (%)
	T100	T50		
Peso corporal (kg)	490,50	484,20	NS	3,45
Escore de Condição Corporal	2,59	2,49	NS	11,04
Produção leiteira (kg/vaca/dia)	19,69	10,11	0,0002	10,10
Produção leiteira corrigida <sup>2</sup>	17,70	9,60	0,0001	7,78
Gordura (%)	3,68	3,84	NS	13,90
Proteína (%)	2,93	2,90	NS	7,29
Caseína (%)	2,21	2,07	NS	8,74
Lactose (%)	4,67	4,51	NS	3,93
Sólidos totais (%)	12,19	12,11	NS	5,04
Sólidos desengordurados (%)	8,50	8,28	NS	2,65
Contagem de células somáticas <sup>3</sup>	219,75	171,66	NS	13,33
Álcool 76°GL <sup>4</sup>	0,50	1,00	0,0910	50,07
Álcool, %	77,41	68,89	0,0632	6,61
Fervura	0	0	1,00	0,00
Acidez titulável (°D)	17,31	15,03	0,0308	7,00
Densidade (g/l)	1.032	1.029	0,0813	0,11
Crioscopia (°H)	-0,5662	-0,5552	0,0056	0,67

<sup>1</sup> T100: oferta de dieta para atender a 100% das exigências nutricionais (NRC, 2001). T50: oferta de 50% das quantidades dos alimentos da dieta T100. <sup>2</sup> Correção para 4% de gordura (NRC, 2000) <sup>3</sup> (valor da CCS x 1000) <sup>4</sup> Proporção de amostras positivas no álcool 76%, análise da distribuição de frequências pelo teste do  $\chi^2$ . Valores de P>F superiores a 0,10 foram reportados como não significativos (NS)

Houve uma redução média de 35,6% na produção de leite dos animais durante a restrição alimentar além da redução nos teores de proteína bruta, lactose e sólidos totais do leite, mas não houve variação nos teores de gordura e houve aumento dos níveis de uréia (Tabela 3).

Tabela 3 – Características físicas do leite dos animais submetidos à restrição alimentar (somente forragem) e do grupo controle (T100) (Zanela et al., 2006b)

Variáveis	T100	Forragem	P=F
Acidez Titulável (°Dornic)	19,56	18,23	0,0006
pH	6,66	6,69	0,0159
Álcool 76% (1 a 5)	1,47	2,13	0,0434
LINA (1=Lina, 0 – normal)	0,25	0,54	0,0078
Crioscopia (°H)	-0,541	-0,543	NS
Densidade	1.029,53	1.029,48	NS
Gordura (%)	4,17	3,84	NS
Proteína Bruta (%)	3,40	3,06	0,0001
Lactose (%)	4,67	4,52	0,0007
Sólidos Totais (%)	13,30	12,46	0,0017
Uréia (mg/dL)	12,65	23,93	0,0001
CCS* (x 1000 cel/mL leite)	319	480	NS

A suplementação de dietas deficientes em energia e proteína promoveu o aumento da produção leiteira e da concentração de sólidos e a melhoria da estabilidade do leite. Na tabela 4, são apresentados os dados obtidos quando se suplementou vacas com suplementos contendo altos níveis de energia e proteína e apenas altos níveis de proteína (Marques et al., 2010b).

Tabela 4 - Resultados médios conforme o tipo de suplemento oferecido e sua significância sobre a produção e os aspectos físicos e químicos do leite

Item	Suplementos (níveis de energia e proteína) <sup>1</sup>			
	BB	AA	BA	P>F
Produção de leite (L) <sup>(4)</sup>	8,66 <sup>b</sup>	12,97 <sup>a</sup>	13,16 <sup>a</sup>	0,0084
Precipitação (% álcool v/v) <sup>(2)</sup>	69,23 <sup>b</sup>	74,97 <sup>a</sup>	70,81 <sup>b</sup>	0,0042
Densidade (g/dL)	1029,07 <sup>b</sup>	1030,66 <sup>a</sup>	1029,51 <sup>b</sup>	0,0145
Acidez titulável (°D)	18,26 <sup>b</sup>	20,97 <sup>a</sup>	19,67 <sup>ab</sup>	0,0137
Crioscopia (°H)	-0,5397 <sup>a</sup>	-0,5520 <sup>b</sup>	-0,5432 <sup>ab</sup>	0,0237
Lactose (%)	4,03 <sup>c</sup>	4,56 <sup>a</sup>	4,34 <sup>b</sup>	0,0001
Gordura (%)	4,76 <sup>b</sup>	4,77 <sup>b</sup>	5,41 <sup>a</sup>	0,0365
Proteína Bruta (%)	3,93 <sup>a</sup>	3,86 <sup>a</sup>	3,95 <sup>a</sup>	0,8379
Extrato seco total (%)	13,34 <sup>b</sup>	14,15 <sup>a</sup>	14,44 <sup>a</sup>	0,0006
Extrato seco deseng. (%)	8,58 <sup>c</sup>	9,38 <sup>a</sup>	9,03 <sup>ab</sup>	0,0004
CCS (x céls/mL) <sup>(3)</sup>	250.601 <sup>a</sup>	46.309 <sup>b</sup>	87.058 <sup>ab</sup>	0,0209

<sup>(1)</sup> BB baixos níveis de energia e proteína, AA altos níveis de energia e proteína e BA baixo nível de energia e alto nível de proteína. Valores ajustados para a co-variável dias em lactação.

<sup>(2)</sup> menor porcentagem de álcool na mistura que provocou a coagulação do leite

<sup>(3)</sup> Contagem de células somáticas <sup>(4)</sup> Produção de leite corrigida para 4 % de gordura

No entanto, em outros trabalhos, apesar da suplementação melhorar a estabilidade do leite, não se verificou melhoria da produção e/ou do teor de sólidos (Abreu, 2008 – Tabela 5).

Em outro estudo (Zanela et al., 2006c), vacas foram mantidas em uma pastagem de azevém (*Lolium multiflorum*), aveia preta (*Avena strigosa*), trevo branco (*Trifolium repens*) e cornichão (*Lotus corniculatus*) e receberam à noite silagem de milho e feno. Além disto, foram suplementadas ou não com concentrado. O não fornecimento de concentrado exerceu efeitos moderados sobre a produção e composição do leite (Tabela 6).

Tabela 5. Resultados médios conforme o tipo de suplemento oferecido e sua significância sobre a produção e os aspectos físicos e químicos do leite (Abreu, 2007)

Atributos	Dieta controle	Dieta ajustada	P>F	CV (%)
Produção de leite (kg/dia)	16,79	17,79	ns	11,8
Produção de leite corrigida 4% gordura (kg/dia)	15,64	18,66	ns	30,0
Proteína (%)	3,66	3,75	ns	4,28
Gordura (%)	3,90	4,75	ns	29,22
Lactose (%)	4,40	4,45	ns	5,57
Sólidos totais (%)	12,58	13,39	ns	8,95
N-ureico (mg/dL)	10,73	11,88	ns	18,28
% de álcool *	76,4 <sup>b</sup>	79,0 <sup>a</sup>	0,005	1,90
Teste da fervura (+ ou -)	-	-	ns	0
Acidez titulável (°D)	16,79	17,79	ns	7,21
Densidade (g/L)	1032,1	1032,2	ns	0,07
Crioscopia (°H)	-0,5241	-0,5257	ns	0,93
CCS (x 1000 cel/mL)**	519,5	353,6	ns	7,98
CBT (x 1000 UFC/mL)**	1.680,8	1.207,3	ns	5,41

\* % mínimo de álcool na solução do teste capaz de induzir a coagulação \*\*- valores não transformados são apresentados para facilitar a compreensão

Tabela 6 – Média da composição química do leite e contagem de células somáticas do leite de vacas em pastejo suplementadas ou não com concentrado.

Componentes	Com concentrado	Sem concentrado	P=F
Instabilidade ao etanol (%)**	80,60	78,20	0,0221
LINA	0	0,35	0,0023
Produção de leite (L/vaca/dia)	17,2	15,1	0,0726
Gordura (%)	4,35	3,85	NS
Proteína Bruta (%)	3,49	3,30	0,0298
Lactose (%)	4,69	4,66	NS
Sólidos Totais (%)	13,57	13,34	0,0505
Uréia (mg/dL)	13,02	13,34	NS
CCS* (x 1000 cel/mL leite)	306	163	NS

\*CCS = contagem de células somáticas NS = não significativo

\*\* concentração de etanol capaz de induzir a precipitação no teste do álcool

Além do “status” nutricional, o estágio de lactação afeta a estabilidade do leite, provavelmente devido a alterações na concentração de proteínas (fase inicial), de cátions divalentes e sua proporção com ânions e equilíbrio salino. Vacas no início da lactação (Tsioulpas et al., 2007b) apresentaram reduzida estabilidade térmica, assim como aquelas em estágio lactacional avançado apresentaram elevada incidência de LINA, apesar de terem sido bem alimentadas e não apresentarem mastite (Marques et al., 2010<sup>a</sup> - Tabela 7), o que foi relacionado aos elevados teores de cálcio iônico do leite (Tsioulpas et al, 2007a,b; Lewis, 2011).

Tabela 7 - Resultados médios conforme o ajuste das dietas testadas: baixo (BS) e alto (AS) nível de suplementação para vacas em estágio avançado de lactação

Parâmetros	BS	AS	P>F
Precipitação (% etanol)*	72,11 a	73,01 a	0,5820
Densidade (g dL <sup>-1</sup> ) (g L <sup>-1</sup> )	1028,1 a	1028,3 a	0,6612
Acidez (°D)	16,87 a	17,68 a	0,3860
PC (°H) <sup>(1)</sup>	-0,560 a	-0,563 a	0,6213
Lactose (%)	4,44 a	4,41 a	0,5514
Gordura (%)	3,05 b	3,54 a	0,0172
PB (%) <sup>(2)</sup>	3,17 a	3,33 a	0,0895
N-ureico (mg dL <sup>-1</sup> )	18,85 a	19,05 a	0,9158
Caseína (%)	2,07 a	2,11 a	0,6084
EST (%) <sup>(3)</sup>	11,64 b	12,22 a	0,0411
CCS (x 1000 céls mL <sup>-1</sup> ) <sup>(4)</sup>	50 a	116 a	0,0711
PLC (L) <sup>(5)</sup>	11,81 b	16,05 a	0,0001
Ganho de peso (kg dia <sup>-1</sup> )	0,33 b	0,76 a	0,0050
Ganho de condição corporal*	-0,31 b	0,13 a	0,0001

<sup>(1)</sup> Ponto crioscópico <sup>(2)</sup> Proteína bruta <sup>(3)</sup> Extrato seco total <sup>(4)</sup> Contagem de células somáticas <sup>(5)</sup> Produção de leite corrigida para 4% de gordura <sup>a,b</sup> letras distintas na mesma linha indicam médias diferentes segundo o teste DMS Fisher ou \* Krukal-Wallis

Além do estágio lactacional e do aporte de nutrientes, alterações digestivas e/ou metabólicas foram relacionadas à redução da estabilidade do leite, possivelmente devido à acidose metabólica induzida pela acidose ruminal (Ponce e Hernandez, 2005) ou pela adição de sais aniônicos à dieta durante a lactação (Marques et al., 2011). Nesse último caso, a redução da estabilidade foi relacionada à redução do pH e ao aumento do cálcio iônico (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultados dos aspectos físicos e composição química do leite de vacas consumindo dietas catiônicas (controle) ou aniônicas

Variáveis	Dietas		
	Controle	Aniônica	P>F
Precipitação (% álcool)	77,28	74,45	0,0175
Densidade (g/dL)	1030,61	1028,64	0,0002
Acidez titulável (°D)	17,36	16,77	0,1226
Lactose (%)	4,41	4,20	0,0059
Gordura (%)	5,64	5,24	0,1827
Proteína Bruta (%)	3,79	3,60	0,0302
Extrato seco total (%)	15,07	14,29	0,0331
CCSt <sup>(1)</sup>	5,09	4,77	0,3504
N-uréico (mg/dL)	11,48	13,72	0,3010
Cálcio Iônico (g/l)	0,074	0,087	0,0004
pH leite	6,63	6,61	0,2082

<sup>(1)</sup> Contagem de células somáticas corrigida por transformação logarítmica para análise de variância

Entretanto, aparentemente os produtores podem lançar mão de uma ampla variedade de dietas, desde que essas atendam às exigências nutricionais dos animais, sem causar distúrbios digestivos. Todavia, o uso indiscriminado e sem critério de aditivos normalmente não acarreta em benefício aos animais e aos produtores (Fischer, 2010). Em um estudo (Machado, 2010), vacas holandesas, com menos de 200 dias em lactação e com as suas exigências nutricionais atendidas, incrementaram a sua produção leiteira, mostraram adequada composição e estabilidade térmica mesmo recebendo níveis crescentes de concentrado (35, 45 e 50%). Ver tabelas 9 e 10.

Tabela 9: Resultados médios de acordo com o nível de concentrado na dieta e sua significância sobre as características dos animais

Variável	Equações de regressão <sup>(1)</sup>	Médias das dietas (% de concentrado na dieta)			P>F	R <sup>2</sup> regressão
		35	45	55		
Peso (Kg)	Y = 582,68	585,34	574,10	588,30	0,5305	0,01
ECC (1 – 5) <sup>(2)</sup>	Y = 3,17	3,13	3,18	3,19	0,3919	0,01
PL (L/dia) <sup>(3)</sup>	14,84 + 0,16X	20,44	22,04	23,64	0,0165	0,08
PLC (L/dia <sup>4</sup> )	16,14 + 0,11X	21,01	23,89	23,85	0,1036	0,04
EFICPLC <sup>5</sup>	Y = 1,25	1,15	1,31	1,29	0,3855	0,01
pH urinário	Y = 6,13	6,15	6,10	6,11	0,1916	0,00
pH ruminal <sup>6</sup>	Y = 7,16 – 0,0138 X	6,68	6,54	6,40	0,0001	0,72

(1) X = níveis de concentrado na matéria seca da dieta:35, 45 e 55% , (2) Escore de condição corporal; (3) Produção de leite (4) Produção de leite corrigida para 4% de gordura (NRC, 2001) (5) Eficiência de produção de leite corrigida= PLC/consumo de matéria seca (L leite/Kg MS) (6) equação relativa aos valores obtidos no final do período experimental

Tabela 10: Valores de médias de acordo com a proporção de concentrado na dieta e sua significância sobre as características físico-químicas do leite

Variável	Equações de regressão <sup>(1)</sup>	Médias das dietas (% de concentrado)			P>F	R <sup>2</sup>
		35	45	55		
pH	Y = 6,68	6,67	6,68	6,66	0,8445	0,01
Acidez (°D)	Y = 17,07	17,04	17,04	17,13	0,8369	0,01
Álcool (% v/v)	Y = 79,79	79,46	80,96	78,96	0,4933	0,01
TCT (min) <sup>(2)</sup>	Y = 6,21	6,26	6,17	6,21	0,9266	0,00
CCSc <sup>(3)</sup>	Y = 5,14	5,17	5,16	5,10	0,6463	0,00
CBTc <sup>(4)</sup>	Y = 3,86 + 0,029X	4,88	5,17	5,46	0,0001	0,32
Proteína (%)	Y = 3,15	3,18	3,16	3,11	0,2975	0,02
Gordura (%)	Y = 4,26 – 0,013X	3,81	3,68	3,55	0,0337	0,06
Lactose (%)	Y = 4,96 – 0,007X	4,72	4,65	4,58	0,0177	0,08
ST <sup>5</sup> (%)	Y = 13,30 – 0,019X	12,64	12,45	12,26	0,0744	0,05
Uréia (mg/dL)	Y = 33,94 – 0,18X	27,64	25,84	24,04	0,0740	0,07

(1) X = níveis de concentrado na matéria seca da dieta:35, 45 e 55, (2) Tempo de Coagulação no Tanque (minutos até iniciar a coagulação), (3) Contagem de células somáticas transformada por aplicação de logaritmo, (4) Contagem bacteriana total transformada por aplicação de logaritmo, (5) ST= sólidos totais do leite

Apesar de se identificarem fatores relacionados aos animais como estágio de lactação (Marques et al., 2010a), e aqueles relacionados ao manejo como subnutrição (Marques et al., 2010b; Fruscalso, 2007; Zanela et al., 2006a, b, c), efeitos da suplementação sobre rebanhos com elevada prevalência de instabilidade (Marques et al., 2010b; Abreu, 2008; Zanela et al., 2006b) e alterações digestivas (Ponce e Hernandez, 2005) e metabólicas (Marques et al., 2011) existe uma expressiva variação durante o ano da composição e da estabilidade térmica do leite, não inteiramente relacionada a fatores identificados, e portanto não controlados pelos produtores ou pesquisadores, como foi descrito por Tsioulpas et al. (2007b).

Entretanto, os mecanismos pelos quais a restrição alimentar e o estágio avançado da lactação reduzem a estabilidade do leite ainda não foram totalmente elucidados, assim como as relações entre fatores não nutricionais como individualidade dos animais, raça, potencial produtivo, suscetibilidade ao estresse, variações climáticas, sobretudo o calor, infecção da glândula mamária, entre outras com a estabilidade do leite não foram ainda completamente estabelecidas.

O estudo dos mecanismos que afetam a estabilidade devido ao estresse, em particular aqueles provocados pelo estresse calórico e pela restrição alimentar, mostrou através de resultados preliminares enviados pela nossa equipe ao presente congresso que um dos possíveis mecanismos de atuação é o aumento da permeabilidade das “tight junctions”, com aumento da força iônica e instabilidade das caseínas. Todavia mais estudos e análises são necessários.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU, A. S. Leite Instável Não Ácido E Propriedades Físico-Químicas Do Leite De Vacas Jersey. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
2. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº51 de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru e refrigerado. Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília, 2002.
3. CHAVEZ, M., NEGRI, L., TAVERNA, M.A. et al. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. Journal of Dairy Research, v.71, p.201-206, 2004.
4. CONCEIÇÃO, R.C.S. et al. Correlação entre as provas do álcool e da acidez titulável para amostras de leite com Síndrome do leite anormal (SILA). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10., 2001, Pelotas. Anais... Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2001.
5. DONATELE, D.M. et al. Estudo da relação da prova do álcool 72% (v/v) com pH, grau Dornic e contagem de células somáticas do leite de vacas do município de campos do Goytacazes, RJ In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28., 2001, Brasília. Anais.... Brasília: CONBRAVET, 2001.
6. 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, 2003.

7. FISCHER, V. et al. Chemical composition of unstable non-acid milk. *Ciências Veterinárias*, v.4, p. 52, 2006a.
8. FISCHER, V. Avaliação do leite na fazenda: impacto do uso do alizarol/álcool sobre a cadeia produtiva do leite. Anais do CBQL, 2010. CD-rom.
9. FRUSCALSO, V. Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência do Leite Instável Não Ácido. Porto Alegre, 2007. 134p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia- Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 2007.
10. LOPES, L.C. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo: Pirassunga, 63 p. 2008.
11. LEWIS, M.J. The measurement and significance of ionic calcium in milk – review. *International Journal of Dairy Technology*, v.64, n.1, p.1-13, 2011.
12. MACHADO, S.C. Fatores que afetam a estabilidade térmica do leite bovino. 2010. 132 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
13. MARQUES, L.T., ZANELA, M.B., RIBEIRO, M.E.R., STUMPF, W. JR, FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (lina) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 13, n.1, p. 91-97, 2007.
14. MARQUES, I.T. ; FISCHER, V., ZANELLA, M.B. et al. Suplementação de vacas holandesa em estágio avançado de lactação. *Ciência Rural*, v.40, n.6, p.1392-1398, 2010a.
15. MARQUES, I.T. ; FISCHER, V., ZANELLA, M.B. 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*, v.39, n.12, p.2724-2730, 2010b.
16. MOLINA, L. H. et al. Correlation between heat stability and alcohol test of milks at a milk collection center. *Archivos de Medicina Veterinaria*, v 2. 2001.
17. NEGRI, L. et al. Fatores que afectan la estabilidad térmica y la prueba de alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada. Informe técnico final Del proyecto. INTA EEA / Rafaela - INTI CITIL Rafaela, 2001.
18. NEGRI, L; CHAVEZ M.; TAVERNA M. et al. Determinación de las variables que afectan la estabilidad térmica de la leche utilizando un método capilar para evaluar el tiempo de coagulación por calor. *Revista Argentina de Lactología*, n.22, p.33-44, 2003.
19. 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. et al. (Ed). *Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras*, Porto Alegre, 2001 :61-72.
20. OLIVEIRA, C.A.F., LOPES, L.C.; FRANCO, R.C. et al. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Saúde Produção Animal*, v.12, n.2, p.508-515, 2011.
21. ROMA JUNIOR, L.C., ZAGO, C.A., RODRIGUES, A.C.D. et al. Estudo da proteína do leite em termos de quantidade e qualidade. II CBQL, 2007.
22. SOBHANI, S; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. *Dairy Science* v. 85, Suppl. 1, 1998.
23. SOBHANI, S; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. The effect of intravenous infusion of glucose on ethanol stability of milk in Holstein dairy cows. Disponível em: <<http://www.bsas.org.uk/meetings/annlproc/pdf2003/132.pdf>>. Acesso em: jun. 2003.
24. Tsioulpas, A., LEWIS, M.J., GRANDISON, A.S. Effect of minerals on casein micelle stability of cow's milk. *Journal of Dairy Research*, v.74, p.167-173, 2007a.
25. Tsioulpas, A., GRANDISON, A.S, LEWIS, M.J. Changes In Physical Properties of bovine milk from the colostrums period to early lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 90, p. 5012-5017, 2007b.
26. ZANELA, M. B. et al. Leite Instável Não Ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41, p. 835-840, 2006a.
27. ZANELA, M. B. et al. Indução e reversão do Leite Instável Não Ácido (LINA). In: CONGRESSO PAN-AMERICANO DE LEITE, 9., 2006, Porto Alegre. Anais..., Porto Alegre: FEPAL, 2006b.
28. ZANELA, M. B. et al. Indução experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA) em vacas Jersey com sistema de produção a pasto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. Anais..., Goiânia: CBQL, 2006c.
29. 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*, v. 61, p. 1009-1013, 2009.