

LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA): PREVENÇÃO NA PROPRIEDADE LEITEIRA E IMPACTOS NOS LATICÍNIOS

¹Fischer, V.; ²Zanela, M.B.; ³Ribeiro, M.E.R.; ⁴Marques, L.T.; ⁵Abreu, A.S.; ⁶Machado, S.C.; ⁷Fruscalso, V.; ⁸Barbosa, R.S.; ⁹Stumpf, M.T.; ¹⁰Kölling, G.J.; ¹¹Viero, V.

Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Coordenador do grupo de pesquisa Estudos em pecuária leiteira e comportamento animal, bolsista CNPq; Pesquisadores da Empresa Clima Temperado, membros do grupo de pesquisa Estudos em pecuária leiteira e comportamento animal; ³Medica veterinária, membros do grupo de pesquisa Estudos em pecuária leiteira e comportamento animal; ⁴Estudante de pós graduação da UFRGS, membros do grupo de pesquisa Estudos em pecuária leiteira e comportamento animal; ⁵Professor da Faculdade de Itapiranga, membro do grupo de pesquisa Estudos em pecuária leiteira e comportamento animal; ⁶Extensionista da Emater-RS, membro do grupo de pesquisa Estudos em pecuária leiteira e comportamento animal; ⁷Professora da UNIC Primavera do Leste, membro do grupo de pesquisa Estudos em pecuária leiteira e comportamento animal.

INTRODUÇÃO

Desde 2005, com a implementação da Instrução Normativa 51 do Ministério da Agricultura (Brasil, 2002), oficializou-se a implantação de um programa para controlar e padronizar a qualidade do leite. Os padrões mínimos estabelecidos para o recebimento industrial do leite com relação à composição química são: 3,0% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato seco desengordurado. O número máximo de células somáticas por mL de leite e a contagem bacteriana total variam conforme a região e o ano de avaliação, sendo para a Região Sul, entre 2008 e 2011, de 750.000 células/mL de leite e 750.000 bact./mL, respectivamente. Com relação à caracterização física, o leite deve apresentar acidez titulável de 14 a 18°D e deve ser estável em solução alcoólica com no mínimo 72% de etanol v/v.

A prova de estabilidade no teste do álcool ou alizarol é realizada nas propriedades rurais antes do recebimento do leite pelo transportador e novamente é realizada na plataforma de recebimento do leite nas indústrias. Segundo a legislação, o leite que precipita nesse teste não deve ser transportado para a indústria. Esse teste é usado para estimar a estabilidade térmica do leite, e o leite que precipita é considerado instável, embora alguns estudos (Molina et al., 2001; Negri et al., 2001; Machado, 2010), questionem essa relação entre estabilidade na prova do álcool e térmica.

A baixa estabilidade térmica do leite, estimada pelo teste do álcool, é um problema grave e frequentemente encontrado em vários estados do Brasil, como no Rio Grande do Sul (Marques et al., 2007; Zanela et al., 2009; Machado, 2010), em São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro (Donatele et al., 2001; Roma Junior et al., 2007; Lopes, 2008). Erroneamente, o leite instável na prova do álcool é interpretado como ácido, o que contribui para mal entendidos entre a indústria e os produtores, pois grande parte das amostras de leite que precipita nesse teste, apresenta resultados normais de acidez nos testes que a avaliam diretamente (pH ou acidez titulável), como mostram os estudos de (Marques et al., 2007; Zanela et al., 2009 e Machado, 2010).

Esse leite com acidez normal e instável no teste do álcool foi denominado de leite instável não ácido (LINA). Nessas regiões, a incidência do LINA é superior a 25 e 50% das amostras coletadas dos caminhões tanques e das amostras individuais de leite enviadas para a indústria, respectivamente.

Por outro lado, na intenção de recolher um produto com maior estabilidade, as indústrias laticínias aumentaram o teor de etanol na mistura alcoólica de 72 para 76, 78 e mesmo 80 ou 82%, na pressuposição de que as amostras de leite que não coagulam em concentrações cada vez maiores de álcool, seriam mais estáveis termicamente durante o processo industrial, o que, a partir de 74% de etanol, não se verifica (Shew, 1981; Molina et al., 2001; Chavez et al., 2004). Todavia, esses procedimentos aumentam o número de resultados positivos ao teste, penalizando especialmente os produtores de pequena produção e não garante a indústria um produto com melhor estabilidade térmica.

A avaliação rápida, de baixo custo e confiável do leite cru nas propriedades rurais e na plataforma de recebimento do leite nas indústrias são necessárias, em função do elevado número de produtores rurais em cada linha de coleta do leite, da ampla variação na qualidade do leite e no seu impacto sobre o processamento nas indústrias e a qualidade dos derivados lácteos. A indústria necessita descartar amostras com problemas de acidez elevada e conhecer a estabilidade térmica do leite recebido na plataforma, a fim de possibilitar a escolha do destino da matéria prima recebida sem causar prejuízos ao processamento. A reduzida estabilidade do leite pode afetar toda a cadeia láctea, desde os produtores, indústria e até mesmo os consumidores.

LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)

O LINA é o leite que precipita em solução alcoólica sem, entretanto, haver acidez elevada do leite. Esta situação está associada a alterações na estabilidade das caseínas, relacionada às propriedades físico-químicas do leite como o equilíbrio salino, proporção de cátions divalentes e monovalentes, entre outros (Figura 1).

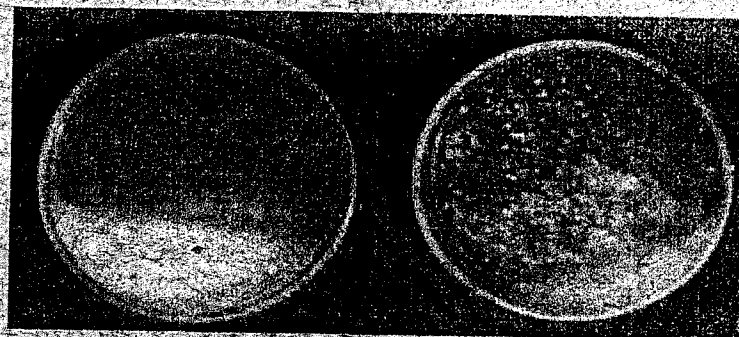


Figura 1 - Reação negativa (esquerda) e positiva (direita) ao teste do álcool.

PREVALÊNCIA DO LINA

Alterações na estabilidade do leite na prova do álcool foram relatadas pela literatura em diferentes regiões do mundo como no Japão, na Itália (Ponce Ceballos e Hernandez, 2001), no Irã (Sobhani et al., 1998), em Cuba (Ponce e Hernandez, 2001), no Uruguai (Barros, 2001) e em vários estados do Brasil, como no Rio Grande do Sul (Marques et al., 2007; Zanela et al., 2009; Machado, 2010), em Santa Catarina (Abreu et al., 2011), em São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro (Donatele et al., 2001; Roma Junior et al., 2007; Lopes, 2008).

No Sul do Brasil, na bacia leiteira de Pelotas, RS, durante 36 meses, foram analisadas 18.662 amostras de leite, sendo 8.230 (44,1%) positivas ao LINA. A sua prevalência apresentou valor máximo em março de 2004 com mais de 82% e mínimo em janeiro de 2004 com 33%, com uma amplitude de 49 unidades percentuais. O LINA foi mais prevalente nos produtores que entregaram menores quantidades de leite (Marques et al., 2007). Na bacia leiteira de Panambi, RS, a prevalência do LINA, no período de setembro de 2002 a agosto de 2003, foi de 55% (sendo avaliadas 2.396 amostras), com mais 37% de amostras normais, 6% de amostras alcalinas e 2% de amostras ácidas (Zanela et al., 2009). De

forma semelhante ao constatado na bacia leiteira de Pelotas, verificou-se que, à medida que o volume de produção médio de leite da propriedade aumentou, diminuiu a incidência de LINA, especialmente nos produtores que entregaram mais de 150L de leite/dia.

Quando se compararam os dados de incidência de LINA nas duas regiões: Pelotas (sudeste do RS) e Panambi (noroeste do RS) foram verificadas diferenças entre os meses de maior prevalência (Figura 2).

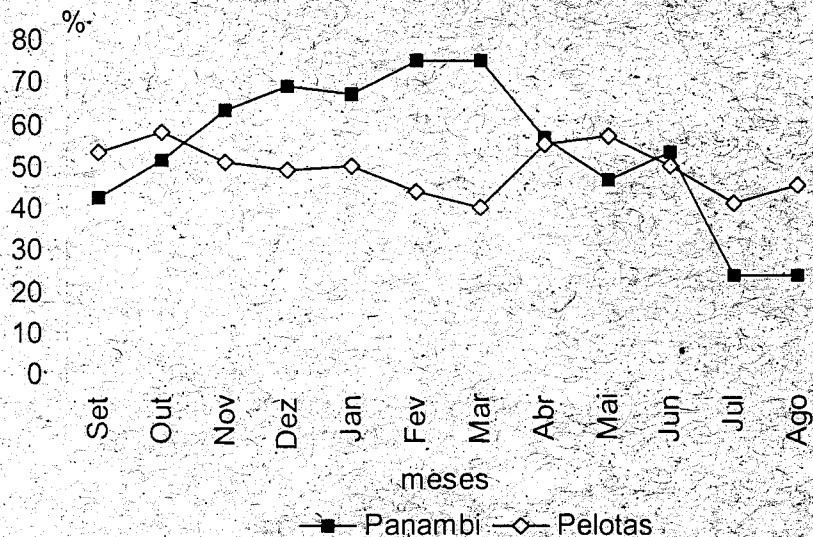


Figura 2 - Comparação da ocorrência do LINA no período de setembro de 2002 a agosto de 2003, na bacia leiteira de Panambi e Pelotas (Fischer, 2010).

Esse fato pode ser explicado parcialmente pelos diferentes sistemas de produção dessas regiões. Na bacia leiteira de Pelotas, a frequência maior de LINA nos meses de outono está associada à escassez de alimentos nesse período. Esse fato deve-se ao final de ciclo das pastagens de verão associado à falta de pastagens de inverno (que ainda não se encontram aptas para utilização). Já na região de Panambi, a cultura da soja é bastante difundida, e seu desenvolvimento ocorre no verão. Dessa forma, durante esse período as vacas leiteiras ficam restritas às zonas marginais das unidades de produção de leite, ocorrendo diminuição da disponibilidade de alimento, o que pode

acarretar no aumento da ocorrência de LINA. No período de outono/inverno, aumenta a utilização das pastagens de azevém anual (*Lolium multiflorum*) e aveia preta (*Avena strigosa*), as quais são costumeiramente plantadas na resteva das lavouras de soja, levando à maior disponibilidade de forragem para as vacas em lactação, possivelmente reduzindo a ocorrência de LINA.

Outro aspecto constatado é que o LINA é mais prevalente em estabelecimentos rurais com pequena produção leiteira, provavelmente associada às condições de alimentação e manejo desfavoráveis (Zanela et al., 2009; Machado, 2010). Dessa forma, há um aspecto social nessa situação, em que pode ocorrer maior rejeição pela indústria do leite proveniente dessas propriedades com pequena produção leiteira. O entendimento sobre a concentração de álcool mais adequada no teste e como evitar os problemas de estabilidade poderia favorecer esses produtores.

Quando se compara a composição do leite estável com o LINA, constata-se diferenças estatísticas, mas de pequena magnitude quanto aos teores de gordura e lactose entre o leite normal e LINA, o qual apresentou maior teor de gordura, mas menor teor de lactose, como apresentado nos trabalhos apresentados por Fischer et al. (2006) (Tabela 1) e por Zanela et al. (2009). Em relação ao trabalho realizado em Panambi, foram analisadas 2.205 amostras para composição química (Zanela et al., 2009). A porcentagem de gordura não apresentou variação significativa entre o leite normal e o LINA, entretanto, os teores de proteína bruta, lactose, sólidos totais e sólidos desengordurados foram inferiores no LINA (Tabela 2).

Tabela 1 - Valores médios para o leite normal e o LINA, na bacia leiteira de Pelotas, quanto aos aspectos físico-químicos e microbiológicos

Componentes	Leite normal	LINA	P=F
Gordura (%)	3,48	3,60	0,0001
Proteína bruta (%)	3,03	3,04	NS*
Lactose (%)	4,39	4,28	0,0001
EST (%)	10,90	10,93	NS
Crioscopia (°H)	-0,544	-0,544	NS
Redutase (classif., 1, 2 e 3)	1,08	1,12	NS
CCS (cél/mL x 1.000)	425	454	NS

*NS - não significativo.

Tabela 2- Porcentagem dos componentes químicos de amostras de leite normal e LINA, provenientes da bacia leiteira de Panambi

Componentes	Normal	LINA	P=F
Gordura (%)	3,39	3,43	0,0723
Proteína (%)	3,05	3,01	0,0001
Lactose (%)	4,39	4,29	0,0001
Sólidos Totais (%)	11,78	11,65	0,0001
Sólidos Desengordurados (%)	8,39	8,23	0,0001

Esses e outros resultados encontrados na literatura (Costabel et al., 2010) demonstram que a composição química do LINA não prejudica seu uso como alimento, ficando o seu uso industrial na dependência da severidade do tratamento térmico a ser aplicado. Nesse sentido, a quase totalidade das amostras de LINA se revela estável no teste da fervura (Fischer et al., 2010), sendo uma indicação de que as amostras com estabilidade maior ou igual a 72% poderiam ser pelo menos pasteurizadas e, portanto, aproveitadas inclusive para a produção de derivados como queijos (Costabel et al., 2010).

A relação entre o teste do álcool (concentrações de etanol) e outras formas de estimar a estabilidade térmica como teste da fervura e teste do tempo de coagulação não é muito evidente (Molina et al., 2001; Negri et al. 2001; Chavez et al., 2004; Machado, 2010). Medidas como tempo de coagulação no tanque e teste da fervura foram, respectivamente, pouco correlacionadas ($r=0,32$, $P>T=0,0001$, $n=490$) e sem qualquer relação, demonstrando que os dois métodos se relacionam apenas parcialmente (Machado, 2010; Chavez et al., 2004).

Tabela 3 - Análise descritiva das características físicas e estabilidade do leite produzido por 50 produtores na região nordeste do RS nos anos de 2007, 2008 e 2009 (Machado et al., 2010)

Variável	Nº	Média	Mediana	Moda	Int 25-75%	CV
pH	1583	6,75	6,8	6,8	6,7-6,8	1,24
Acidez titulável (°D)	1583	15,85	16	15	15-17	8,55
Álcool (% v/v)	1700	74,75	76	78	72-78	5,57
TCT (min)	600	5,04	4,42	3,45	3,25-6,11	56,22

Entretanto, as indústrias laticínias aumentaram o teor de etanol na mistura alcoólica de 72 para 78, 80% e mesmo 82%, o que, por sua vez, aumenta o número de resultados positivos ao teste (Figura 3), podendo penalizar especialmente os produtores de pequena produção. Isto se deve ao fato da indústria procurar leites com maior estabilidade térmica em função do crescimento da produção de leite em pó e leite UHT, mas como escrito anteriormente, esse procedimento não encontra embasamento científico (Machado, 2010; Shew, 1981).

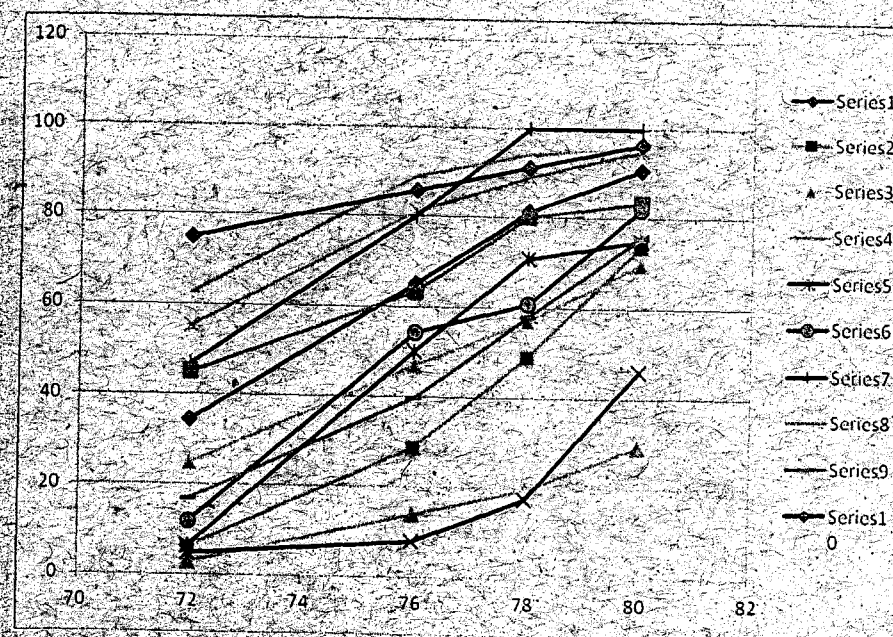


Figura 3- Percentual de resultados positivos no teste do álcool conforme a concentração em etanol (Fischer et al., 2010a).

Dentre os fatores estudados, a alimentação influencia a estabilidade do leite. A restrição alimentar com conseqüente subnutrição ou desequilíbrio nutricional se destaca por reduzir a estabilidade do leite. A restrição alimentar provocada pela redução de 40 a 50% da quantidade de alimento oferecida diminuiu a produção leiteira, aumentou a frequência da ocorrência do LINA e/ou reduziu a concentração mínima de etanol necessária para induzir a coagulação do

leite (Zanela et al., 2006; Fruscalso, 2007; Abreu, 2008; Marques et al., 2010a,b; Barbosa, 2011).

No entanto os efeitos da restrição alimentar sobre a composição química do leite foram variáveis: houve trabalhos que não mostraram efeito sobre os componentes do leite (Fruscalso, 2007; Zanela et al., 2006a,c; Abreu, 2008), enquanto outros mostraram reduções acentuadas do percentual de componentes (Zanela et al., 2006b; Marques et al., 2010a,b). Nos primeiros estudos, foi retirado uma quantidade proporcional de concentrado e volumoso (Fruscalso, 2007; Zanela et al., 2006a), o que não ocorreu no último estudo (Zanela et al., 2006b), onde a restrição alimentar foi causada pela remoção de todo o concentrado, o que alterou mais o aporte de nutrientes.

Tabela 4 - Médias da composição química do leite, características físicas e contagem de células somáticas do tratamento controle (T100) e da restrição alimentar de 40% (T60) (Zanela et al., 2006)

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 ($\times 1.000$ 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 5 - Valores médios de acordo com o nível de oferta da dieta sobre os aspectos físicos e composição química do leite (Fruscalso, 2007)

Variáveis	Tratamentos ¹		P<F	CV (%)
	T100	T50		
Peso corporal (kg)	490,50	484,20	NS	3,45 ²
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 ²	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 ³	219,75	171,66	NS	13,33
Álcool 76°GL ⁴	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

¹ T100: oferta de dieta para atender a 100% das exigências nutricionais (NRC, 2001)

T50: oferta de 50% das quantidades dos alimentos da dieta T100.

² Correção para 4% de gordura (NRC, 2000).

³ (valor da CCS $\times 1000$).

⁴ Proporção de amostras positivas no álcool 76%, análise da distribuição de frequências pelo teste do χ^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 6).

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; Zanela et al., 2006c). Nesses estudos, provavelmente a pequena diferença de atendimento nutricional (100 x 80% do recomendado pelo NRC - Abreu, 2008) e a possibilidade de compensação de consumo de nutrientes da pastagem pelas vacas que não receberam concentrado (Zanela et al., 2006c) tenham evitado a detecção de diferenças na composição do leite.

Tabela 6 - 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

Tabela 7 - Resultados médios conforme o tipo de suplemento oferecido e sua significância sobre a produção e os aspectos físicos e químicos do leite (Abreu, 2008)

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 b	79,0 a	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

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 disso, foram suplementadas ou não com concentrado. O não fornecimento de concentrado exerceu efeitos moderados sobre a produção e composição do leite (Tabela 8).

Tabela 8 - 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.

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

(1) 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.

(2) menor porcentagem de álcool na mistura que provocou a coagulação do leite.

(3) Contagem de células somáticas.

(4) Produção de leite corrigida para 4% de gordura.

Pode-se constatar que o excesso de proteína não contribuiu para melhorar a estabilidade do leite, o que vem de encontro as recomendações técnicas de se elevar o teor proteico da dieta para melhorar as características físico-químicas do leite.

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., 2010a), o que foi relacionado aos elevados teores de cálcio iônico do leite (Tsioulpas et al., 2007a,b; Lewis, 2011).

Tabela 10 - 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 ⁻¹) (g L ⁻¹)	1028,1 a	1028,3 a	0,6612
Acidez (°D)	16,87 a	17,68 a	0,3860
PC (°H) ⁽¹⁾	-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 (%) ⁽²⁾	3,17 a	3,33 a	0,0895
N-uréico (mg dL ⁻¹)	18,85 a	19,05 a	0,9158
Caseína (%)	2,07 a	2,11 a	0,6084
EST (%) ⁽³⁾	11,64 b	12,22 a	0,0411
CCS (x 1000 céls mL ⁻¹) ⁽⁴⁾	50 a	116 a	0,0711
PLC (L) ⁽⁵⁾	11,81 b	16,05 a	0,0001
Ganho de peso (kg dia ⁻¹)	0,33 b	0,76 a	0,0050
Ganho de condição corporal	-0,31 b	0,13 a	0,0001

(1) Ponto crioscópico.

(2) Proteína bruta.

(3) Extrato seco total.

(4) Contagem de células somáticas.

(5) Produção de leite corrigida para 4% de gordura.

^{a,b} letras distintas na mesma linha indicam médias diferentes segundo o teste DMS Fisher ou * Kruskal-Wallis.

Além do estágio lactacional e do aporte de nutrientes, alterações digestivas e/ou metabólicas foram relacionadas a redução da estabilidade do leite, possivelmente devido a acidose metabólica induzida pela acidose ruminal (Ponce e Hernandez, 2005) ou pela adição de sais aniônicos a dieta durante a lactação (Marques et al., 2011). Nesse último caso, a redução da estabilidade foi relacionada a redução do pH e ao aumento do cálcio iônico (Tabela 11).

Tabela 11 - Resultados dos aspectos físicos e composição química do leite de vacas consumindo dietas catiônicas 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 ⁽¹⁾	5,09	4,77	0,3504
N-urêico (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

(1) 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, mantiveram a sua produção leiteira, produziram leite com adequada composição química e estabilidade térmica mesmo recebendo níveis crescentes de concentrado (35, 45 e 50%). (Tabelas 12 e 13).

Tabela 12 - Resultados médios de acordo com o nível de concentrado na dieta e sua significância sobre as características dos animais

Variável	Equações de regressão ⁽¹⁾	Médias das dietas (% de concentrado na dieta)			P>F	R ² regressão
		35	45	55		
Peso (Kg)	Y = 582,68	585,34	574,10	588,30	0,5305	0,01
ECC (1 - 5) ⁽²⁾	Y = 3,17	3,13	3,18	3,19	0,3919	0,01
PL (L/dia) ⁽³⁾	14,84 + 0,16X	20,44	22,04	23,64	0,0165	0,08
PLC (L/dia) ⁽⁴⁾	16,14 + 0,11X	21,01	23,89	23,85	0,1036	0,04
EFICPLC ⁽⁵⁾	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 tuminal ⁽⁶⁾	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 13 - 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 ⁽¹⁾	Médias das dietas (% de concentrado)			P>F	R ²
		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
Alcool (% v/v)	Y = 79,79	79,46	80,96	78,96	0,4933	0,01
TCT (min) ⁽²⁾	Y = 6,21	6,26	6,17	6,21	0,9266	0,00
CCSc ⁽³⁾	Y = 5,14	5,17	5,16	5,10	0,6463	0,00
CBTc ⁽⁴⁾	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 ⁽⁵⁾ (%)	Y = 13,30 - 0,019X	12,64	12,45	12,26	0,0744	0,05

(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.

A sanidade da glândula mamária (mastite subclínica) aparentemente não exerce efeitos marcantes sobre a estabilidade do leite no teste do álcool (Fischer, 2010) e existem dúvidas até que ponto o teste do álcool consegue identificar leites mastíticos (Chavez, 2010) ainda que outros autores tenham observado uma relação negativa entre estabilidade do leite e CCS (Oliveira et al., 2011). Kolling et al. (2011) não verificaram a relação entre estabilidade no teste do álcool e valores de CCS (Tabela 14).

Tabela 14 - Análise descritiva da estabilidade e da contagem de células somáticas (CCS)

Estabilidade (% etanol v/v)	Varição da CCS (x 1000 células/mL leite)
62 - 66	16 - 9.235
68 - 72	40 - 9.910
74 - 78	26 - 5.648
80 - 86	12 - 9.999

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., 2006), 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. (2007) e é mostrado na Tabela 15.

Entretanto, os mecanismos pelos quais a restrição alimentar e o estágio avançado da lactação reduzem a estabilidade do leite ainda não foram 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.

Tabela 15 - Valores médios e a amplitude de variação da composição do leite de vacas de um rebanho mantido em boas condições de alimentação e sanitárias (Tsioulpas et al., 2007)

Componentes do leite	Media±DP	Amplitude de variação
Cálcio iônico (g/L)	0,075 ± 0,02	0,04 - 0,21
Proteína (%)	3,48 ± 0,9	2,56 - 5,12
Gordura (%)	3,74 ± 1,1	1,37 - 5,72
Lactose (%)	4,50 ± 0,3	2,74 - 4,98
Estabilidade ao etanol (%)	83,2 ± 12,6	62 - 100
Tempo de coagulação (min)	13,6 ± 4,7	6,3 - 31,0
pH	6,63 ± 0,08	6,42 - 6,87

Os impactos do LINA sobre a cadeia produtiva poderiam ser didaticamente divididos naqueles sobre o produtor de leite, indústria e consumidor. Aparentemente o impacto mais negativo incide sobre o produtor de leite, pois o mesmo corre o risco de ter seu leite rejeitado pela indústria, e, na maioria das vezes, desconhece as causas e como evitar ou minorar o problema. Como produtores e técnicos ainda pensam que a precipitação do leite no teste do álcool ocorre se o leite estiver ácido, e como na maioria das vezes, o leite apresenta acidez normal e não coágula no teste da fervura, isto gera dúvidas e desconfiança por parte dos produtores em relação às indústrias.

As indústrias também se ressentem da reduzida estabilidade térmica e desconhecem muitas vezes as causas, medidas de prevenção e os pressupostos em que se baseiam os testes de estabilidade. Todavia, em função do que já se sabe, pode-se verificar que a composição química do LINA e do leite estável é semelhante, ainda que o LINA efetivamente possa apresentar menores teores de proteína, lactose e eventualmente gordura, o que poderia resultar em rendimentos menores na confecção dos lácteos, embora existam relativamente poucos resultados sobre isto e portanto necessidade em se pesquisar mais sobre o assunto. Há autores que reportam menores rendimentos e vida de prateleira mais curta dos produtos fabricados com leite instável, enquanto outros não observaram diferenças significativas com iogurte (Krolow et al., 2006), queijo (Costabel et al.,

2010; FISCHER, 2010). Todavia o LINA pode ser usado para a produção de leite pasteurizado, e o seu uso pode reduzir a capacidade ociosa das indústrias.

Do ponto de vista do consumidor, o impacto do LINA é menos evidente, pois a qualidade do leite parece ser a mesma do ponto de vista nutricional, mas se a rejeição do leite diminuir o volume disponível, isto pode aumentar os preços e/ou reduzir a disponibilidade de produtos lácteos. Não há relação entre LINA e problemas de segurança alimentar.

A indústria ainda não dispõe de outro teste rápido, de baixo custo que permita identificar o leite adequado ao processamento térmico. Entretanto como a qualidade do leite recebido é bastante variável e muitas vezes baixa, a indústria necessita dessa informação, que é fornecida com algum grau de confiança pelo teste do álcool ou alizarol. Todavia as suas limitações foram levantadas anteriormente. Dos trabalhos realizados, a despeito de uma variação natural e aleatória da estabilidade medida dessa forma, pode-se afirmar que rebanhos bem nutridos, bem manejados, isto é, livres de doenças, com conforto térmico, tratados de forma não aversiva, com reduzida porcentagem de animais muito ao início ou muito ao final da lactação apresentam adequada estabilidade térmica do leite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- ABREU, A.S.; FISCHER, V.; KOLLING, G.J. et al. Ocorrência do leite instável no oeste catarinense e sua relação com acidez e tempo de coagulação. IN **II Conferência Internacional de Leche Inestable**, Uruguai, setembro 2011.
- BARBOSA, R.S. **Perfil eletroforético das frações protéicas e estabilidade do leite de vacas em lactação sob diferentes tipos de dietas**. 2011. 137 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Pelotas.
- 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.

- 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.
- 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.
- COSTABEL, L.M.; CUATRIN, A.L.; PAEZ, R. et al. Estudio de la relación entre aptitud a la coagulación por cuajo y prueba de alcohol en muestras de leche de vacas individuales. In: **AVANÇOS CIENTÍFICOS E CAMINHOS PARA INOVAÇÕES NA AMÉRICA LATINA**. RIBEIRO, M.E.R., ZANELA, M.B., SCHAFFHAUSER, J.JR (editores). Embrapa, Pelotas, P. 63-74. 2010.
- 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.
- DONATELE, D. M.; VIEIRA, L. F. R.; 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.
- FISCHER, V. et al. Chemical composition of unstable non-acid milk. **Ciências Veterinárias**, v.4, p. 52, 2006a.
- FISCHER, V. Avaliação do leite na fazenda: impacto do uso do alizarol/álcool sobre a cadeia produtiva do leite. **Anais do CBQL**, 2010. CD-roma.
- FISCHER, V.; ZANELA, M.B.; MARQUES, L.T. Alimentação de vacas leiteiras: reflexos sobre a produção leiteira e características físico-químicas do leite. In: **AVANÇOS CIENTÍFICOS E CAMINHOS PARA INOVAÇÕES NA AMÉRICA LATINA**. RIBEIRO, M.E.R., ZANELA, M.B., SCHAFFHAUSER, J.JR (editores). Embrapa, Pelotas, P. 125-138. 2010b.
- 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.



- KOLLING, G.J.; ZANELA, M.B.; STUMPF, M.T.; FISCHER, V. et al. Instabilidade do leite de quartos mamários de vacas com mastite – resultados preliminares. IN: **II Conferência Internacional de leite instável**, Uruguai, setembro 2011.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- MARQUES, I.T.; FISCHER, V.; ZANELLA, M.B. et al. Suplementação de vacas holandesa em estádio avançado de lactação. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p.1392-1398, 2010a.
- 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.
- 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.
- 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 CITAL Rafaela, 2001.
- 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.
- 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.



- 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. p. 61-72.
- 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.
- SHEW, D. I. 1981. **Technical aspects of quality assurance**. Pages 115–121 in IDF Document 133, New Monograph on UHT-Milk. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- 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.
- 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/annproc/pdf2003/132.pdf>>. Acesso em: jun. 2003.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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: FEPALE, 2006b.
- 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.
- 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.