

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MARIANE GHEDIN RODRIGUES AZAMBUJA

**INCIDÊNCIA DO LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO EM REBANHOS LEITEIROS
NO SUDOESTE DO PARANÁ**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS
2018

MARIANE GHEDIN RODRIGUES AZAMBUJA

**INCIDÊNCIA DO LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO EM REBANHOS LEITEIROS NO
SUDOESTE DO PARANÁ**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia, do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos. Área de Concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Magnos Fernando Ziech

DOIS VIZINHOS

2018

A991i Azambuja, Mariane Ghedin Rodrigues
Incidência do leite instável não ácido em rebanhos leiteiros
no sudoeste do Paraná. / Mariane Ghedin Rodrigues
Azambuja – Dois Vizinhos, 2018.
53 f.
Orientador: Dr. Magnos Fernando Ziech.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, Dois Vizinhos, 2018.
Bibliografia p.45-52.

1. Leite - Produção. 2. Leite - Qualidade. 3. Bovinos de
leite. 4. Estações do ano. I. Ziech, Magnos Fernando, orient.
II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois
Vizinhos. III. Título

CDD: 637

Ficha catalográfica elaborada por Caroline Felema dos Santos Rocha CRB: 9/1880

Biblioteca da UTFPR-Dois Vizinhos



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação

**INCIDÊNCIA DO LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO EM REBANHOS LEITEIROS
NO SUDOESTE DO PARANÁ**

MARIANE GHEDIN RODRIGUES AZAMBUJA

Dissertação apresentada às nove horas do dia 26 de abril de dois mil e dezoito, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, Linha de Pesquisa – Produção e Nutrição Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção Animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos. A candidata foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Banca examinadora:

Magnos Fernando Ziech
UTFPR-DV

Marcela Tostes Frata
UTFPR - DV

Gilmar Meinerz
UFFS

Prof. Dr. Wagner Paris
Coordenador do PPGZO

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

A Deus por estar constantemente presente em minha vida, e nessa fase que por muitas vezes somente tua força me manteve firme.

Aos meus pais Adelio (*in memoriam*) e Eromilde, meus irmãos Marcelino e Mauricio, e meu amado esposo Guilherme, vocês são os pilares de minha vida e minhas conquistas.

A vocês com muito amor, dedico!

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só pode ser concluído graças à ajuda direta e indireta de muitas pessoas.

Alguns diretamente ligados ao trabalho e a parte experimental e outros presentes com incentivos e forças para levar até o final.

**A vocês meus Professores,
colegas, Amigos e Família...
Minha gratidão!**

“Na corrida dessa vida é preciso entender que você vai rastejar, que vai cair, vai sofrer e a vida vai lhe ensinar que se aprende a caminhar e só depois vai correr. A vida... a vida é uma corrida, que não se corre sozinho. Que Vencer não é chegar é aproveitar o caminho. Sentindo o cheiro das flores e aprendendo com as dores causadas por cada espinho.

Aprenda com cada dor, com cada decepção, com cada vez que alguém lhe partir o coração. O futuro é obscuro e às vezes é no escuro que se enxerga a direção. Aprenda quando chorar e quando sentir saudade. Aprenda até quando alguém lhe faltar com a verdade. Aprender é um grande dom! Aprenda que até o bom vai aprender com a maldade.

Aprender a desviar das pedras da ingratidão, dos buracos da inveja, das curvas da solidão... expandindo o pensamento, fazendo do sofrimento a sua maior lição, sem parar... sem parar de aprender, aproveite cada flor, cada cheiro no cangote, cada gesto de amor, cada música dançada e também cada risada silenciando o rancor.

Experimente o mundo, prove de todo sabor, sinta o mal, o céu e a terra, sinta o frio e o calor. Sinta a sua caminhada e dê sempre uma parada, pelo caminho que for.

Pare! Pare, não tenha pressa! Não carece acelerar. A vida já é tão curta! É preciso aproveitar essa estranha corrida, que a chegada é a partida... e ninguém pode evitar.

Por isso é que o caminho tem que ser aproveitado deixando pela estrada, algo bom para ser lembrado. Vivendo uma vida plena, fazendo valer a pena, cada passo foi dado.

Aí sim... aí sim, lá na chegada onde o fim é evidente, é que a gente percebe que foi tudo de repente e aprende na despedida, que o sentido dessa vida é sempre seguir em frente.”

Braulio Bessa.

AZAMBUJA, Mariane Ghedin Rodrigues. **Incidência do leite instável não ácido em rebanhos leiteiros no sudoeste do Paraná.** 2018. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi identificar a incidência e a ocorrência em diferentes raças e períodos de lactação do Leite Instável Não Ácido (LINA), devido à grande importância da cadeia leiteira no sudoeste do Paraná e busca pela qualidade do leite. Buscou-se então em duas etapas identificar a incidência e diferenciação deste em relação leite normal. A primeira parte do trabalho foi a análise de dados fornecidos por uma indústria láctea localizada no centro da região Sudoeste do Paraná, foram 3.874 amostras analisadas no período de outubro de 2014 a outubro de 2016. Posteriormente, no período compreendido entre os meses de março a agosto do ano de 2017, realizou-se o experimento em uma propriedade cujo rebanho é composto por animais de duas raças: Holandesa (60%) e Jersey (40%). Os dois grupos, definidos de acordo com a raça, receberam a mesma dieta alimentar e foram mantidos no mesmo sistema de produção (a pasto). O delineamento experimental foi fatorial, utilizando como fator A as duas raças (Holandês e Jersey) e como fator B as três fases de lactação (0 a 100, 101 a 200 e acima de 201 dias em lactação). Os resultados de ambos foram submetidos às análises estatísticas utilizando-se o programa estatístico GENES. Para análise comparativa dos dados, foi utilizado teste de Tukey a 5% de significância. Verificou-se que o período de maior incidência de LINA no Sudoeste do Paraná é a estação do outono. Vacas holandesas são mais susceptíveis, independentemente da fase de lactação quando comparadas às vacas da raça Jersey submetidas ao mesmo manejo. O período de lactação compreendido entre 101 e 200 dias em lactação apresenta maiores percentuais de LINA em rebanho Holandês.

Palavras-chave: LINA, composição físico-química, período de lactação, estações do ano.

AZAMBUJA, Mariane Ghedin Rodrigues. **Incidence of unstable milk without acidity in dairy herds in southwestern Paraná. 2018.** Dissertation (Master in Animal Science) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

ABSTRACT

The objective of this work was to identify the incidence and occurrence in different breeds and lactation periods of unstable milk without acidity (LINA), due to the great importance of the dairy chain in southwestern Paraná and milk quality. It was then sought, in two stages, to identify the incidence and differentiation of this in relation to normal milk. The first part of the study was the analysis of data provided by a dairy industry located in the center of the Southwest region of Paraná. There were 3,874 samples analyzed in the period from October 2014 to October 2016. Subsequently, in the period from March to August of 2017, the experiment was carried out on a farm whose herd is composed of two breeds: Dutch (60%) and Jersey (40%). The two groups, defined according to race, received the same diet and were kept in the same production system (grazing). The experimental design was a factorial, using the two races (Dutch and Jersey) and factor B as the three lactation stages (0 to 100, 101 to 200 and over 201 days in lactation). The results of both were submitted to the statistical analyzes using the statistical program GENES. For comparative analysis of the data, Tukey's test was used at 5% significance. It was verified that the period of greatest incidence of LINA in the Southwest of Paraná is the fall season. Dutch cows are more susceptible, regardless of the lactation stage when compared to Jersey cows subjected to the same management. The lactation period between 101 and 200 days in lactation presents higher percentage of LINA in the Dutch herd.

Keywords: LINA, unstable milk, physicochemical composition, lactation period, seasons of the year.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Número de propriedades com incidência de leite normal e de LINA na região Sudoeste do Paraná - 2017.....	34
Figura 2	Valores percentuais de propriedades produzindo leite Normal e LINA ao longo de dois anos de avaliação	35
Figura 3	Incidência de LINA (%) em vacas da raça holandesa de 0 a 100 dias em lactação (A), de 101 a 200 dias de lactação (B) e acima de 201 dias em lactação (C) no Sudoeste do Paraná 2017.....	41
Figura 4	Incidência de LINA (%) em vacas da raça Jersey de 0 a 100 dias em lactação (A), de 101 a 200 dias de lactação (B) e acima de 201 dias em lactação (C) no Sudoeste do Paraná 2017.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Interação entre estações do ano e percentual de gordura e proteína em leite normal e LINA em propriedades leiteiras no Sudoeste do Paraná.....	37
Tabela 2	Valores percentuais de lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado (ESD) no leite normal e LINA em propriedades no Sudoeste do Paraná.....	38
Tabela 3	Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total(CBT) em amostras avaliadas no Sudoeste do Paraná.....	38
Tabela 4	Valores percentuais de leite Normal e LINA em vacas das raças Holandês (H) e Jersey separadas em função dos dias em lactação (DEL).....	40
Tabela 5	Médias de dias em lactação (Del), acidez, pH, gordura e proteína no leite produzido por vacas em lactação das raças Holandês e Jersey submetidas ao mesmo manejo no Sudoeste do Paraná.....	43

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Parecer da Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA	52
---------	---	----

SUMÁRIO

1 Introdução.....	12
2 Objetivos.....	14
3 Revisão de literatura.....	15
3.1 Importância da produção de leite na economia brasileira.....	15
3.2 Composição do Leite.....	17
3.3 Qualidade do leite.....	22
3.4 Leite instável não ácido (LINA).....	24
3.5 Possíveis causas do leite instável não ácido (LINA).....	26
3.6 Consequências do LINA na cadeia leiteira.....	29
4. Material e Métodos.....	30
5. Resultados e Discussão.....	33
6. Conclusões.....	43
Referências.....	44
Anexos.....	52

1 INTRODUÇÃO

O leite é um alimento natural e completo devido à sua rica composição que contém gorduras, proteína, minerais e vitaminas (LOPES, 2008). Além de suas propriedades nutricionais, o leite oferece elementos anticarcinogênicos, presentes na gordura, como o ácido linoléico conjugado, esfingomiéline, ácido butírico, β caroteno, vitaminas A e D (MULLER, 2002).

O Brasil, quarto maior produtor mundial em 2016, aumentou a sua produção em 2,7% no período 2012 – 2015. O leite está entre os seis produtos mais importantes do setor agropecuário brasileiro, estando à frente de produtos como o café e o arroz. O leite representa 24% do valor bruto da produção gerada pela pecuária, sendo inferior somente ao da carne bovina e superior ao valor da produção de frangos, suínos e ovos. A produção brasileira está em 35,3 bilhões de litros/ano (EMBRAPA, 2015), sendo a região sul responsável por 35,2 % dos 35 bilhões de litros de leite produzidos no país. Nos estados do Sul, o Paraná conquistou o segundo lugar pelo segundo ano consecutivo na produção de leite brasileira. A produção de leite no Paraná vem num ritmo ascendente nos últimos 10 anos. A pesquisa do IBGE revelou o crescimento de 75%, avançando de um volume de 2,7 bilhões de litros em 2006 para 4,7 bilhões de litros no ano passado, um crescimento de 2 bilhões de litros de leite no período. Pode-se afirmar que o sudoeste do Paraná desde 2016 é considerado a principal bacia leiteira do Estado, e uma das bacias leiteiras mais importantes do país (IBGE, 2017).

A busca por produzir um leite de boa qualidade vem exigindo cada vez mais dos produtores rurais. A melhor maneira de se produzir leite seguro é o controle das condições de produções, seu armazenamento e transporte até a indústria (DURR, 2004). Devido a isso em 2002 entrou em vigor a Instrução normativa 51 que foi derogada pela instrução normativa 62/2011 (IN 62, ambas possuem o objetivo de padronizar a qualidade do leite cru em todo o país. A IN 62 estabelece que o leite cru deve possuir teores maiores ou iguais a 3% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato seco desengordurado, acidez titulável entre 14 e 18° *Dornic* e ser estável em solução alcoólica com, no mínimo, 72°GL de etanol (BRASIL, 2011).

Os laticínios e empresas de subprodutos e derivados buscam leite cru de boa qualidade, com os níveis de composição dentro dos padrões e que apresente

estabilidade térmica. No entanto, é frequente ao realizar o teste do álcool, o leite apresentar-se instável (MARQUES et al., 2007). A instabilidade pode ocorrer devido à queda de pH do leite ou em casos de LINA, este que em alguns casos é erroneamente interpretado como ácido, o que ocasiona situações embaraçosas entre os laticínios e os produtores de leite, pois em um grande número de casos o leite se apresenta normal aos níveis de pH ou acidez titulável (OLIVEIRA et. al., 2011).

Este é um problema que acomete rebanhos leiteiros em nível mundial (FISCHER et al., 2012). Como confirma Marques et al. (2007) o leite que precipita em solução alcoólica sem, entretanto, haver acidez elevada. É caracterizado como leite instável não ácido (LINA), o leite que apresenta precipitação da caseína e consequentemente sensibilidade ao teste do álcool sem apresentar acidez acima de 18° *Dornic*.

A incidência de LINA ainda não está esclarecida e, todavia, não possui causas definidas. Ceballo et al., (2001), comenta que a ocorrência de LINA está associada a diversos transtornos fisiológicos, metabólicos e nutricionais, os quais originam implicações nos mecanismos de sínteses e secreção láctea em nível de glândula mamária. Donatele et al., (2003) afirmam que a ocorrência do LINA não está associada à contagem bacteriana, e nem é ocasionado por acidez elevada, como entendem maioria dos produtores (MARQUES, 2004).

Santos e Fonseca (2007) afirmam que o leite LINA não é prejudicial à saúde de seus consumidores, por não se tratar de um leite contaminado ou adulterado, porém ele apresenta alterações físico-químicas que podem comprometer seu rendimento e sabor durante a industrialização.

A ocorrência desta alteração no leite provoca prejuízos significativos para os produtores, com problemas na fabricação dos subprodutos derivados do leite. Baseado nisso, este estudo foi conduzido no Sudoeste do Paraná, visando identificar a incidência de LINA e sua ocorrência durante o ano, como também a diferenciação de composição de um leite normal para um leite LINA.

A segunda parte do estudo foi conduzida com o principal objetivo de diferenciação de incidência entre as raças e fases de lactação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Verificar a incidência do leite instável não ácido em rebanhos leiteiros na região sudoeste do Paraná, durante as diferentes estações do ano, diferentes raças e períodos de lactação.

2.2 Objetivos Específicos:

- a) Verificar a composição do leite normal, comparado ao leite instável não ácido;
- b) Avaliar a incidência de leite instável não ácido em animais que estão no mesmo período de lactação e, que, são submetidos ao mesmo manejo alimentar, porém, de raças distintas;
- c) Comparar a incidência de leite instável não ácido em animais submetidos ao mesmo manejo alimentar, porém, em fases de lactação distintas;
- d) Quantificar a incidência de leite instável não ácido nos animais analisados no referido estudo;

3 REVISÃO DE LITERATURA

O recorte teórico deste estudo inicia-se enfatizando a importância da produção de leite para a economia brasileira e posteriormente para o Estado do Paraná com foco exclusivo na região sudoeste, onde se desenvolveu esta pesquisa. Abordou-se sobre a importância da qualidade do leite, que é fator decisivo para a alavancagem da produção leiteira no Estado.

Um dos fatores que interfere na qualidade do leite é a instabilidade do mesmo, que ainda não tem causas específicas e, é o tema central deste trabalho, isto é, o leite instável não ácido – LINA.

A posteriori, este recorte busca enfatizar a composição do leite, distinguindo a diferença da composição do leite normal e do LINA, as possíveis causas e as prováveis consequências.

3.1 IMPORTÂNCIA DA PRODUÇÃO DE LEITE NA ECONOMIA BRASILEIRA

Nas últimas décadas, foi possível acompanhar uma mudança gradativa e constante em todos os setores da economia mundial. O mercado passou a se adaptar as várias demandas e necessidades existentes. Essa adaptação gerou uma modernização dos diversos setores que compõem a economia mundial, inclusive o setor agropecuário e, por meio deste, a cadeia leiteira (CNA, 2009).

No Brasil, a produção de leite começou a ganhar destaque e a transformar-se de maneira significativa a partir da década de 1980, quando o leite UHT ou longa vida tornou-se popular. Este fato possibilitou, de acordo com Rodrigues (2017), as instalações de novas fábricas lácteas por todo o país e, por consequência, permitiu aos produtores a expansão da sua produção.

Alves (2001) afirma que a queda do preço tabelado sobre o leite e a existência do livre comércio, a partir dos anos 90, combinado com o surgimento do Mercosul e a implantação do Plano Real, favoreceram uma estabilização financeira e monetária, desta forma, a reestruturação do mercado do leite e seus derivados, favorecendo maior consumo e aumentando a importação dos mesmos.

Entre os anos de 2000 e 2015 a produção nacional cresceu 87% e atingiu 35 bilhões de litros. No mesmo período o rebanho aumentou 29%, por consequência, a

produtividade apresentou aumento de 34%, gerando emprego e renda para aproximadamente 2 milhões de pessoas (ZOCCAL, 2017).

Para Rodrigues (2017), este aumento na produção leiteira a partir do ano 2000, relaciona-se com o fato de que, os produtores de leite no Brasil, estão mais suscetíveis à utilização de tecnologias, isto é, o produtor visando alcançar melhores índices de produção, buscando aumentar o número de animais no rebanho para desta forma produzir mais, além de investir na estrutura da propriedade. Tal contexto supracitado contribuiu de forma direta para formação do Valor Bruto da Produção Agropecuária – VBP, estimado para o ano de 2017 em R\$ 546,3 bilhões. Estima-se que destes, R\$ 170 bilhões derivem da produção pecuária, da qual, R\$ 27 bilhões são arrecadados através do leite e seus derivados, o que representa 15,88% da produção pecuária nacional, o que faz com que o Brasil ocupe o quarto lugar na produção mundial de leite (BRASIL,2017).

3.1.1 Produção de Leite no Estado do Paraná

O Estado do Paraná ocupa desde 2015 o segundo lugar na produção nacional de Leite, com produção de 4,66 bilhões de litros de leite, ficando atrás apenas do Estado de Minas Gerais que produziu no mesmo ano 9,14 bilhões de litros (ZOCCAL, 2017).

O Estado divide-se em quatro mesorregiões com expressão leiteira, a saber: oeste, sudoeste, centro sul e centro oriental. Destaca-se a Mesorregião Sudoeste, formada por 42 municípios, caracterizada por pequenas e médias propriedades rurais e atualmente produz 1,2 bilhões de litros de leite ao ano, correspondendo a 26,6% da produção total do Estado do Paraná (PARANÁ, 2016).

A consolidação da bacia leiteira do Sudoeste, para Camilo (2012), pode ser explicada pela existência de um polo industrial de laticínios e Cooperativas de leite na região, aliada ao fato de ser uma região de pequenas e médias propriedades rurais, que encontram na atividade leiteira, um meio de geração de renda que possibilite aos pequenos e médios produtores rurais renda fixa mensal para pagar as despesas e realizar possíveis investimentos (VOLPPI, 2008).

Corroborando com tais autores, Stoffel e Trentin (2014), afirmam que os aspectos físico-geográficos da região sudoeste, também contribuem para a consolidação e posterior aumento da produção de leite regional, visto que, o clima da

região é favorável para a produção de pastagens, assim como de lavouras de milho e soja, e as chuvas são bem distribuídas e ocorrem com frequência.

Pode-se afirmar em consonância com Winck e Machado (2012), que a produção leiteira tem fundamental importância para a região sudoeste, por desempenhar papel fundamental na sustentabilidade econômica e social, uma vez que, reflete de forma positiva na economia do Estado, além de garantir renda para as famílias rurais, evitando assim, o êxodo destes para os centros urbanos, e por consequência, melhorando o desenvolvimento do meio rural.

3.2 COMPOSIÇÃO DO LEITE

A biossíntese do leite ocorre na glândula mamária sob controle hormonal de cada animal. A grande maioria dos constituintes são sintetizados nas células secretoras e alguns têm acesso ao leite diretamente a partir do sangue e do epitélio glandular. (SILVA, 1997).

Para González (2001), o leite pode ser caracterizado como uma emulsão solubilizada de glóbulos de gordura e uma suspensão de micelas de caseína em uma fase aquosa, além das moléculas de lactose, proteínas do soro, vitaminas e minerais. Complementando Brito e Dias (1998) afirmam que o leite é uma emulsão formada a partir da mistura de gotículas de gordura em água, com a caseína servindo como agente emulsificante e que sua composição possui em média, água (87%), proteínas (3,5%) e gorduras (3,8%), além de minerais e vitaminas. A função proteica do leite é formada por caseína e lactoalbumina.

Convém ressaltar que, a composição do leite pode variar de acordo com alguns fatores, tais como, raça do rebanho, genética, estágio da lactação, nutrição entre outros (BURCHARD E BLOCK, 1998). Silva et al. (1997) destacam a importância da composição do leite para classificação nutricional, processamento e consumo humano do leite.

O leite é considerado um dos alimentos mais completos se tratando em fonte de nutrientes para o consumo humano (tanto de crianças como adolescentes e adultos). A quantidade como também a disponibilidade de proteína, gordura, cálcio e vitaminas do complexo B, A, D, E e K tornam esse alimento essencial na dieta diária humana. (TRIEBOLD e AURAND, 1969).

3.2.1 Composição do Leite Normal

3.2.1.1 Gordura

De acordo com Brito e Dias (1998) a gordura está presente no leite na forma de pequenos glóbulos. Cada glóbulo é envolvido por uma camada de gordura denominada fosfolipídio. Os fosfolipídios formam uma membrana envolta a cada glóbulo, mantendo-os separados um dos outros, assim, a gordura do leite é mantida em suspensão. A síntese da gordura do leite ocorre nas células epiteliais alveolares, onde o retículo endoplasmático rugoso, presente no citoplasma de cada célula, realiza a conversão de precursores absorvidos do sangue do animal (HARDING, 1995).

O tipo de gordura presente no leite de vaca são os triglicerídeos (97 a 99%), os restantes são os fosfolipídios e esteróis, especialmente o colesterol (RIEL, 1991). A gordura do leite é o fator que determina a quantidade de energia líquida direcionada à produção pelo animal, sendo um dos componentes responsável pela coloração do leite (CARVALHO, 2000).

Lopes (2008), afirma que a gordura possui funções e características específicas, sendo a maior fonte de energia do leite, além de possuir outras propriedades que podem aumentar ou diminuir a qualidade do leite produzido.

Segundo Pinna e Fanjardo (2000), a gordura é o componente do leite com maior variabilidade, podendo variar entre 2,2 e 4%. Este percentual pode ser influenciado pela genética animal e ou por fatores ambientais, como o manejo e a dieta nutricional. Quando são fornecidos na dieta nutricional do animal, quantidades superiores a 5 kg de concentrados ricos em grãos, o percentual de gordura no leite tende a ser baixo (STOCKDALE et al., 1987).

Carvalho (2000) explica que esta relação entre aumento de concentrado e redução do teor de gordura do leite, ocorre devido a alteração de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmex do animal, uma vez que, o aumento de concentrados, aumenta por consequência a produção de ácidos graxos voláteis (propiónico e butírico), reduzindo o pH do rúmex, o que faz com que, a degradação da fibra seja prejudicada e diminua a produção de ácido acético que é o principal precursor da gordura do leite, em contraposição ao ácido propiónico que fica elevado.

Devido então à alta variabilidade da gordura do leite, ela é o primeiro componente a ser utilizado como parâmetro no pagamento do mesmo (BURCHARD e BLOCK, 1998).

3.2.1.2. Proteínas

As proteínas são sintetizadas na glândula mamária do rebanho leiteiro e estão presentes no sangue, sendo os aminoácidos precursores das mesmas. As proteínas predominantes no leite são a caseína, a alfa-lactalbumina e a beta-lactoglobulina que juntas correspondem a mais de 90% das proteínas totais do leite, todavia vale enfatizar que só a caseína representa aproximadamente 80% das proteínas totais e atua como um dos determinantes no rendimento da produção de queijo (CARVALHO, 2000).

A caseína é produzida pelas células secretórias das glândulas mamárias, na forma de micelas, que são caracterizadas como agrupamentos de várias moléculas de caseína com cálcio, fósforo e outros minerais. As micelas de caseína são responsáveis juntamente com os glóbulos de gordura, pela consistência e cor dos produtos derivados do leite. As micelas quando unidas com o fosfato de cálcio coloidal, são responsáveis também pela estabilidade térmica do leite. Tais micelas podem ser do tipo hidrofóbico, quando não se mistura na água, e/ou hidrofílica, quando se mistura na água. Os principais fatores que afetam a sua estabilidade são a hidrólise enzimática, a temperatura, o pH, o excesso de cálcio e o etanol (BRITO; DIAS, 1998).

Carvalho (2000) em consonância com os autores citados acima, afirma que o teor da proteína da dieta animal tem efeito muito pequeno sobre o valor da proteína do leite, já que, para cada 1% de proteína da dieta animal, que contém entre 9 e 17% de proteínas, haverá aumento de 0,02% na proteína do leite.

3.2.1.3 Lactose

A lactose é produzida pelas células epiteliais da glândula mamária, sendo a principal fonte de energia dos recém-nascidos. É o principal glicídio do leite, todavia existem outros em pequena quantidade, como a glicose e galactose. No processamento do leite, a lactose é a principal base para produtos fermentados, e compreende cerca de 52% dos sólidos do leite desnatado e 70% aproximadamente, dos sólidos encontrados no soro do leite (GONZALEZ et al., 2001).

Brito e Dias (1998), reforçam que embora a lactose seja um açúcar, ela não tem sabor doce e sua concentração no leite é de aproximadamente 5%, sendo um dos componentes mais estáveis que o leite possui.

A lactose é o principal responsável pelo volume do leite, já que, controla aproximadamente 50% da pressão osmótica, controlando desta forma o volume de água do mesmo (LARANJA E SANTOS, 2000).

Quando o rebanho é acometido por mastite, há uma redução de lactose em aproximadamente 10%, se considerado o leite normal, e nesta condição de mastite, certamente entrará em ação um mecanismo que busca compensar e reestabelecer o equilíbrio osmótico através do aumento da passagem de íons sódio, o que será determinante no aumento da condutividade elétrica do leite e por consequência o sabor do mesmo será mais salgado (FONSECA e SANTOS, 2000).

3.2.1.4 Densidade

De acordo com os autores supracitados, a densidade do leite é a relação entre o seu peso e o seu volume, sendo medida a 15 °C. Os valores considerados normais médios de densidade ficam situados entre 1,028 e 1,033 g ml⁻¹. No entanto, há variações individuais observadas com valores entre 1,024 e 1,036 mL⁻¹.

3.2.1.5 Acidez

Brito (1999) assegura que a acidez do leite é resultado da presença de gás carbônico, citratos, caseína e outros componentes de menor importância no leite, e que os mesmos estão presentes no soro do leite e fazer parte dos sólidos não gordurosos.

Ao ser retirado do úbere o leite é levemente ácido, em torno de 16 a 19º *Dornic*, possui um pH de 6,6 a 6,7 e aproximadamente 1,6 a 2,0 g de ácido láctico/litro (BRITO et al., 2005).

A acidez é variável e pode ser influenciada por alguns fatores como a raça, já que algumas raças produzem leite com acidez mais elevada, ainda o período de lactação pode influenciar na acidez, uma vez que, a fase pós parição tem acidez bem elevada, a qual tende a normalizar no decorrer do período de lactação (OLIVEIRA et al, 1999).

A acidez pode ser medida, segundo Fonseca e Santos (2000), por parâmetros como pH ou em graus *Dornic*. O leite será considerado ácido quando o pH apresentar medida entre abaixo de 6,5, e ou ficar acima de 18 graus *Dornic*. Esta última medida, é a medida considerada pela legislação brasileira, que afirma que o leite normal possui acidez titulável entre 14 e 18 graus *Dornic* e pH entre 6,6 e 6,8.

3.2.1.6 Contagem das Células Somáticas do Leite (CCS)

Entende-se por célula somática, todas as células de defesa do organismo que migram da corrente sanguínea para as glândulas mamárias com objetivo de combater qualquer agente invasor nocivo da saúde mamária do rebanho leiteiro. (MACHADO, 2000)

Para Reis et al. (2013), as células somáticas estão relacionadas a redução da caseína, gordura e lactose do leite, assim como, com o aumento da atividade enzimática e consequente redução da quantidade e da qualidade da produção leiteira.

Fonseca e Santos (2000), afirmam que em animais saudáveis, aproximadamente 70% das células somáticas são de origem epitelial, contrapondo-se a animais com mastite, onde o percentual cai para 50% avançando para índices mais baixos de acordo com a severidade do caso de mastite.

Em casos de mastite, o aumento na CCS ocorre devido ao fluxo de neutrófilos para a glândula mamária a fim de combater a infecção presente, assim assegura Durr et al., (2001) que a CCS é um dos parâmetros mais utilizados para avaliar a saúde do úbere e a consequente qualidade do leite.

A CCS em animais saudáveis deve ser normalmente, menor que 300.000 células/mL de leite. Valores acima deste indicam que há uma condição de anormalidade no úbere, como uma inflamação da glândula que geralmente está associada à idade do animal, estágio de lactação, além do surgimento de patógenos (FONSECA; SANTOS, 2000).

De acordo com Kitchen (1981), a ocorrência de mastite reduz o valor nutritivo dos derivados do leite, além de uma alteração no sabor do mesmo, deixando-o levemente salgado, devido ao aumento de sódio e cloreto e redução da lactose. Corroborando, Oliveira et al., (1999), afirmam que o diagnóstico positivo da mastite, altera a composição e as características físico-químicas do leite. Esse processo ocorre devido a alteração da permeabilidade vascular, que ocorre pela inflamação presente, lesão do epitélio secretor, assim como pela ação de enzimas de origem das células somáticas e microrganismos presente no leite, que é um excelente meio de cultura para multiplicação dos mesmos.

Desde 01/07/2018 entrou em vigor o limite para CCS de máximo de $4,0 \times 10^5$, conforme descrito na tabela 2 do item 3.1.3.1. do Anexo II da Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011).

3.3 QUALIDADE DO LEITE

Para que o leite produzido seja comercializado e por consequência, seja revertido em renda, é fundamental estabelecer parâmetros que possam atestar a qualidade do mesmo. A qualidade do leite *in natura* depende de diversos fatores ligados à sua cadeia de produção. Convém destacar como principais, o bem-estar animal e a forma de manejo e a nutrição dos animais (DURR, 2004).

De acordo, com estudos realizados por Pinheiro (2010), o rebanho leiteiro está tanto quanto o ser humano, vulnerável ao estresse, e esta é uma situação que induz à perda de apetite do animal, assim como a redução da imunidade o que torna o mesmo, mais propenso ao desenvolvimento de doenças, atingindo a produção do leite que pode ser reduzida em até 30%. No mesmo estudo se concluiu que as condições das instalações onde os animais permanecem, afetam também na produção e consequente qualidade do leite. Deve-se observar se o tamanho do espaço comporta a quantidade do rebanho, a temperatura do ambiente, assim como se os animais não estão expostos à chuva e ao frio, se os mesmos têm acesso à água potável, se a superfície destas instalações contribui para que os animais se movimentem sem dificuldade, entre outros fatores que estão relacionados ao conforto e segurança aos animais e que afetam na produção dos mesmos.

Em consonância Pinna e Lizieire (2000), afirmam que a qualidade do leite relaciona-se de forma direta com a saúde, alimentação e manejo dos animais, aliado a fatores tais como, mão de obra qualificada, higienização de equipamentos durante a ordenha, além da forma como é realizado o transporte do leite até a indústria. Todos esses fatores influenciam a sua composição original e, por consequência, as suas características sensoriais, como cor, sabor, aroma e viscosidade.

Em complemento ao exposto, Santos e Fonseca (2007), afirmam que a nutrição do rebanho em lactação é o fator que mais interfere de forma positiva e ou negativa na produção do mesmo, uma vez que, quanto maior for o teor de fibras na alimentação, maior também será o teor de gordura e proteína do leite.

A qualidade do leite pode ser avaliada, ainda segundo Durr (2004), pela integridade e composição. O leite íntegro é aquele que não sofreu a adição de substâncias nem a remoção de componentes, não sofreu deterioração física, química ou microbiológica, e que seja livre de patógenos, e a composição está relacionada

aos nutrientes que compõem o leite entre eles, a proteína, a lactose, os minerais, as vitaminas, demais gorduras e água.

Com base no exposto supracitado, para garantir a qualidade do leite produzido no Brasil e por consequente a sua comercialização para outros países, o Governo Brasileiro emitiu no ano de 2002 a Instrução Normativa 51, pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Esta Instrução Normativa criou o Programa Nacional de Melhoria e Qualidade do Leite (PNMQL), que determina as normas, segundo as quais, o leite deve ser produzido, para que o leite brasileiro possa se adequar aos padrões internacionais mínimos de qualidade do leite cru e industrializado (BRASIL, 2002). Posteriormente, a Instrução Normativa 51, foi derogada pela Instrução Normativa 62 no ano de 2011, esta última também emitida pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011).

De acordo com a Instrução Normativa 62/2011, para se verificar a qualidade do leite, deve-se observar se o mesmo apresenta composição química (sólidos totais, gordura, proteína, lactose e minerais), microbiológica (contagem de bactérias totais - CBT), organoléptica (cor, sabor, aroma e aparência) e contagem de células somáticas (CCS) que atendam aos parâmetros de qualidade internacionais. Além destes parâmetros, deve apresentar estabilidade ao álcool 72% v/v. Ainda, segundo a Instrução Normativa supracitada os padrões mínimos aceitáveis para a sua comercialização são os seguintes: 3,0% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de sólidos desengordurados.

Com relação à acidez e estabilidade da estrutura micelar, o leite deve apresentar acidez titulável de 0,14 a 0,18g ácido láctico/100mL de leite e deve ser estável em solução alcoólica com 72% de etanol, que atualmente é a graduação mínima exigida (BRASIL, 2011). Machado (2010) afirma que entende-se por estabilidade ao álcool, a capacidade que o leite tem de suportar concentrações mínimas de etanol, sem entrar em processo de coagulação.

Contrapondo-se, está à estabilidade térmica, que é a capacidade que o leite tem de suportar altas temperaturas, o que poderá indicar o quanto a adaptação das proteínas com os demais elementos do leite, podem impedir a cooptação destas proteínas e, portanto, a não formação de grumos, o que por consequência determina a estabilidade do leite (WALSTRA e JENNESS, 1984).

Assim pode-se afirmar que, para se atingir os parâmetros de qualidade propostos pela legislação vigente, é necessário um empenho por parte dos produtores

de leite visando melhorar o processo de obtenção do mesmo, a fim de que, se possa oferecer segurança ao consumidor, além de propiciar maior rentabilidade financeira para si próprio, assim como para a indústria do leite no Brasil (PICOLLI et al., 2014).

3.4 LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)

O primeiro relato de LINA foi na Holanda, na cidade Utrecht no ano de 1930, onde foi associada a altas concentrações de cálcio iônico no leite. Inicialmente foi denominada como “Síndrome de Utrecht” e somente após passou a ser Síndrome do leite Instável Não ácido. (OLIVEIRA et al. 2007)

Um dos fatores que mais afetam de forma negativa a qualidade do leite é a ocorrência de LINA que, de acordo com Zanella (2004), pode ser caracterizado como leite que apresenta pH normal, entre 6,6 a 6,8, com acidez abaixo de 18 *Dornic*, e seja reagente ao teste do etanol e da ebulição. Ainda de acordo com o autor, a principal alteração no leite caracterizado como LINA, é que a caseína perde a estabilidade ao teste de etano, conseqüentemente a coagulação será positiva.

Marques et al., (2007), afirmam que como a ocorrência de LINA ainda é pouco conhecida e os produtores tendem a associar a perda da estabilidade do leite à acidez elevada, uma vez que, a coagulação positiva também ocorre, quando há fermentação da lactose, favorecendo a produção de ácido láctico pelos microrganismos que por sua vez, eleva a acidez do leite. Esta situação se gera especialmente pela falta de higiene no momento da manipulação, assim como pela falta de resfriamento e ou refrigeração insuficiente para o leite.

Todavia Zanella (2006) enfatiza que nos casos de LINA, o leite mesmo não estando ácido, apresenta coagulação no teste de etanol, isto é, a acidez permanece dentro dos níveis aceitáveis pela legislação vigente, ou seja, a ocorrência de LINA não está associada à contaminação de microrganismos.

A estabilidade térmica do leite relaciona-se com a capacidade do mesmo em resistir à coagulação através da temperatura elevada e, é definida como o tempo necessário para ocorrer tal coagulação, levando-se em conta o pH e a temperatura. Pode-se estimar a estabilidade térmica do leite através do teste do etanol ou do alizarol que é utilizado para determinar se o leite está apto para o tratamento térmico (SILVA, 2003).

O teste do álcool é o principal realizado para verificação da estabilidade térmica do leite cru. É considerado um método rápido para estimular a estabilidade das proteínas do leite (PONCE, 2000). Nesse processo o álcool atua como desidratante, simulando desta forma as condições de aquecimento, e, se houver floculação do leite, pode ser um indício de acidez no leite e ou instabilidade da proteína, o que torna o mesmo impróprio para o consumo (MOLINA et al., 2001) Ponce e Hernandez (2001) complementam que o teste do álcool é a prova mais simples durante o recebimento do leite, pois é somente misturar partes iguais de leite e de álcool na concentração 72%, e se ocorrer coagulação, a amostra é descartada por que o leite não está apto para o tratamento térmico.

De acordo com Fischer (2010), quando o álcool atua como desidratante, ocorre redução da dielétrica do meio, e desta forma, o aumento da dissolução de sais e a redução da carga negativa de micelas, fazendo com que a precipitação das caseínas seja maior, isto é, quanto mais álcool na solução, mais rápido e visíveis serão os resultados.

Assim, o leite que, quando submetido ao teste do álcool, vai perder a estabilidade da caseína mesmo que mantenha o nível de acidez exigido pela legislação vigente, fica caracterizado como LINA e deve ser descartado, causando prejuízos econômicos e financeiros a toda a cadeia produtiva (RIBEIRO et al., 2010).

3.4.1. Composição do Leite Instável Não Ácido (LINA)

Para verificação da composição do LINA, Oliveira e Timm (2006) realizaram uma análise na região sul do Brasil com 282 amostras de leite, comparando o LINA com o leite normal. Verificou-se inicialmente, que o componente do leite que apresentou maior variabilidade foi a gordura, já que, teve um aumento significativo do LINA (3,30%) contra o leite normal (3,04%). Com relação à lactose, o leite normal apresentou 4,33%, enquanto amostras de LINA apresentaram 4,16%.

Em outro estudo realizado com a mesma finalidade, Marques et al. (2007) verificaram um aumento significativo no teor de gordura, sendo 3,52 e 3,62% de gordura no leite normal e LINA, respectivamente. Os autores afirmaram também que a composição do LINA apresentou redução nos valores de proteína e lactose.

Abreu (2008) argumentou que os níveis de acidez foram considerados normais no LINA, e que não foram encontradas diferenças expressivas na composição de

fósforo, magnésio, lactose, proteínas totais, triglicerídeos e colesterol de animais em lactação, quando comparados os dois tipos de leite. No mesmo estudo ficou evidenciado que não houve diferença na contagem das células somáticas, na contagem bacteriana total, densidade, acidez, produção do leite, ureia e crioscopia do leite estável.

Em outro estudo realizado por Ponce e Hernandez (2001), foi observado aumento da gordura e diminuição da lactose no LINA. Marques (2004) corroborando com o autor acima encontrou resultados semelhantes com aumento de gordura e menor índice de lactose para o LINA.

Com relação à caseína, Marques (2004) argumenta que não se pode afirmar com precisão a diferença existente, devido à interferência de mecanismos metabólicos.

3.5 POSSÍVEIS CAUSAS DO LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)

Esta alteração no leite não possui uma causa específica, porém diversos fatores podem ser associados originando uma causa, tais como as alterações fisiológicas metabólicas e nutricionais. Considerando tais alterações pode-se destacar os desequilíbrios na dieta alimentar, e sua relação com as proteínas e energia produzida já que animais com alto potencial genético apresentam maior incidência de LINA (ZANELA et al., 2006).

De acordo com Farias (2015), a ocorrência de LINA trata-se de um problema multifatorial, isto é, existem várias possibilidades que podem originar, todavia, não se pode afirmar com precisão a real causa do mesmo.

Ribeiro et al. (2010) ressaltam que estudos sobre a ocorrência de LINA vêm sendo realizados em todo o Brasil. Afirmam ainda que todo e qualquer fator relacionado a produção de leite, desde o ambiente onde o animal se encontra, a forma de manejo, até as condições em que o leite é transportado da propriedade até a indústria, pode contribuir e ser causa da incidência do LINA.

Nessa mesma linha Werncke (2012), afirma que a incidência de LINA, pode estar relacionada às épocas do ano, ocorrendo especialmente durante as entressafras de pastagens, mas não se limita a isto, já que, de acordo com o autor, pode estar associado à dieta alimentares, excesso de cálcio, falta de outros minerais, assim

como, o LINA pode ser influenciada pelos estágios de lactação e pela genética do animal. Marques et al. (2007) também associaram a incidência ao período do ano, onde os menores índices de ocorrência de LINA foram durante a época de maior disponibilidade de matéria verde das pastagens (agosto e na primavera).

Marques et al., (2010) concluíram em seu estudo, que o rebanho que recebeu alto nível de suplemento alimentar, apresentou maior reação ao teste de etanol, contrário ao resultado do grupo que recebeu um nível baixo de suplemento alimentar. Contrapondo-se a teoria descrita acima, Zanella et al. (2006), afirmaram que quanto menor for o suplemento alimentar, maior será a frequência de resultados positivos no teste do álcool, o que também foi observado por Fischer et al. (2011), onde afirmam existir influência da alimentação na estabilidade do leite, que é menor quando o rebanho está com restrições alimentares ou em casos de subnutrição.

Esta contradição pode ser explicada pela modificação de minerais presentes no leite, já que, de acordo com Tronco (1997), os mesmos podem alterar a resposta ao referido teste.

Para Lopes (2008), a incidência de LINA pode estar relacionada ao transporte do leite, quando o mesmo é transportado por distâncias longas, já que, para o autor, o transporte pode propiciar proliferação de bactérias mesófilas. Porém para Zanella (2004), o LINA não está relacionado à ação de micro-organismos, já que a acidez do leite permanece em níveis legalmente aceitáveis e que a causa do mesmo está na carga genética dos animais.

Segundo alguns autores a incidência de LINA pode estar relacionada ao ambiente em que os animais estão expostos. Pinheiro (2010), afirma que fatores como a mudança de ambiente, o isolamento do animal, e ou o contato com pessoas desconhecidas, a falta de água, a temperatura ambiental inadequada, entre outros fatores relacionados ao bem-estar animal podem gerar estresse no mesmo, e esta condição de estresse pode ocasionar o LINA.

Martins et al. (2006) concluíram em seu estudo que o teor da composição química do leite varia em função dos meses do ano e está relacionada a qualidade de alimentos que o rebanho consome. Em acordo com tal teoria, Lopes (2008) verificou em seu estudo que o índice de incidência de LINA variou de acordo com o mês de amostragem, o que pode indicar, uma possível influência sazonal.

Santos e Fonseca (2007) defendem a tese de que, o LINA está relacionado a fatores tais como, as características genéticas dos animais, os alimentos utilizados na

dieta nutricional e o estágio da lactação que os animais se encontram. Horne e Parker (1981) reforçam a ideia de que é preciso considerar as diferenças individuais de cada animal, isto é, a genética, por ser este um fator que influencia a ocorrência de LINA.

Peres (2001) atribui o LINA a fatores que reduzem o teor de proteína no leite, entre eles, o baixo consumo de matéria seca, a falta de proteína degradável e a falta de carboidratos não estruturais. Com relação à proteína bruta, Zanela (2009) e Ponce e Hernandez (2001) são unânimes em afirmar que a mesma se encontra em quantidade reduzida no LINA, todavia Negri et al. (2001) afirmam que em outros estudos não foi possível identificar diferenças significativas da proteína bruta presente no leite normal e da proteína bruta no LINA

Holt (2004), parte do princípio de que o excesso de cálcio diminui a estabilidade das proteínas, uníssono a isto, está Viero (2008) que concluiu que o LINA apresenta maior concentração de cálcio e menor concentração de lactose, com relação ao leite normal. De acordo com o exposto, estão Zanella et al. (2006), uma vez que, afirmaram que silagens com elevado teor de fibra e concentrados proteicos, alteram a concentração de cálcio e magnésio, ocasionando resultados positivos ao teste de etanol.

Para Barbosa et al. (2012), quando se diminui o aporte nutricional do animal, há uma tendência à redução da estabilidade da caseína.

Kolling (2012), em seu estudo descartou qualquer ligação de LINA com a saúde da glândula mamária, conclusão essa após a comparação das amostras de leite de animais saudáveis sem mastite clínica ou subclínica com leite de animais que apresentavam a doença em diferentes graus, onde os resultados não tiveram diferença de um para outro quanto a estabilidade. Sendo, portanto, a mastite um fator que não influencia na incidência de LINA do rebanho.

A incidência de LINA, pode ser explicada segundo Chavez et al. (2004), pelas alterações das proteínas do leite às propriedades físico-químicas do mesmo, equilíbrio salino e a proporção de cátions bivalentes.

Assim, Morais (2011) conclui que não existe uma causa específica para a ocorrência de Leite Instável, contudo, existem indicações de que a nutrição animal pode estar mais propensa a ser a causa da incidência de LINA. E que é necessária maior atenção ao teste do etanol, já que o aumento da concentração de etanol na solução do teste pode influenciar maior precipitação da caseína do leite, podendo haver descarte desnecessário do leite analisado.

3.6 CONSEQUÊNCIAS DO LINA NA CADEIA LEITEIRA

O leite que apresenta perda de estabilidade perante o teste do etanol é um leite que mesmo não estando ácido sofre instabilidade da caseína. Esta ocorrência causa prejuízos significativos para a cadeia do leite, afinal o leite é descartado pelos laticínios, gerando prejuízos econômicos e financeiros aos produtores e à indústria (ROMA et al., 2009). Os prejuízos econômico-financeiros atingem toda cadeia produtiva, pois o leite é rejeitado ou subvalorizado, mesmo não ocorrendo alterações de acidez (RIBEIRO et al., 2010).

Donatele et al. (2003) afirma que o descarte do leite quando identificado como instável não ácido, ocorre por ele não resistir ao tratamento térmico (pasteurização) que a indústria realiza para a produção dos seus derivados.

Assim, pode-se afirmar que o impacto pela incidência do LINA, é altamente negativo para todos os envolvidos na cadeia produtiva do leite, já que, ao ter o leite descartado o produtor tem prejuízos econômicos e financeiros, devido à produção não aproveitada, além dos investimentos realizados na alimentação dos animais, além do tempo e da mão de obra que se perdem e se convertem em prejuízo para o mesmo. Para as indústrias, da mesma forma, o impacto é negativo visto que sem a matéria-prima inicial, não há produção e, por consequência, não há vendas (MARQUES et al., 2007).

Para Walstra (1999) o LINA pode ser utilizado, todavia ele é um produto subvalorizado, isto é, sem valor comercial para as indústrias do leite, e, quando utilizado, ele precisa passar pelo processo de pasteurização que é uma etapa obrigatória em qualquer indústria láctea, porém, ao passar por este processo, o LINA forma o que pode ser denominado como deposições anormais nos trocadores térmicos, causando desta forma a contaminação do leite, e por consequência dos equipamentos, o que acarreta em custos para a empresa, já que será necessária limpeza e higienização de todos os equipamentos. Tal fato, segundo o autor corrobora para a importância do descarte do leite no momento da identificação do LINA.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estudo 1

Este estudo foi realizado em parceria com uma indústria de subprodutos lácteos localizada no município de Verê, na parte central da Região Sudoeste do Paraná. A referida indústria coleta leite em 8 municípios da mesma região e, na época da pesquisa (2014 a 2016), a captação diária era em torno de 100 mil/litros/dia. As amostras foram coletadas mensalmente, em propriedades que forneciam leite para a indústria. O período de coleta dos dados foi de outubro de 2014 a outubro de 2016. No total, a indústria possui dez rotas de coleta de leite, por meio de sorteio foram definidas três destas linhas para a captação dos dados.

As amostras foram coletadas mensalmente por um técnico da indústria láctea. Este profissional acompanhava a coleta do leite junto ao caminhão transportador, chegando na propriedade leiteira realizava a coleta no tanque de expansão. Para tal, primeiramente realizava um teste de álcool alizarol (72%), com auxílio do acidímetro salut que mistura 2 ml de alizarol em 2 ml de leite. Na sequência, antecedendo o carregamento, amostras do leite armazenado no tanque de expansão eram coletadas, sendo utilizados dois frascos previamente identificados com os dados de cada propriedade individualizada. Um dos recipientes continha uma pastilha de Broponol (conservante) e o outro era apenas um frasco esterilizado. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, auxiliando na manutenção da temperatura ao longo do trajeto até o laticínio.

Após a chegada à indústria, as amostras eram novamente conferidas e na sequência as caixas eram lacradas e enviadas ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), que tem sede em Curitiba – Paraná.

Ressalta-se que as amostras sensíveis ao teste com alizarol ainda na propriedade não permite o carregamento do leite, porém, o protocolo de amostragem é realizado normalmente mantendo a rotina de amostras mensais.

Dividiu-se os 24 meses de coleta de dados em estações ao longo dos anos avaliados (Primavera, verão, outono e inverno). Assim, o delineamento foi inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo e três repetições (rotas de coleta). Os dados coletados foram submetidos a análise de variância e as médias

comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância com auxílio do pacote estatístico Genes.

4.2 Estudo 2

Esta etapa foi conduzida em uma propriedade leiteira, localizada no município de Mangueirinha – PR, também no Sudoeste do Paraná. A propriedade foi escolhida por tem um rebanho composto por diferentes raças, sendo 68% Holandesa e 32% Jersey. Os animais apesar da diferenciação racial e diferentes fases de lactação eram submetidos aos mesmos manejos nutricionais. A coleta de dados ocorreu no período compreendido entre março e agosto de 2017.

Utilizou-se entre 100 e 150 vacas em lactação, divididas por raça (holandês ou Jersey) e por fase de lactação (fase 1 – 0 a 100 dias, fase 2 – 101 a 200 dias e fase 3 – acima de 201 dias) O número de animais em cada fase variaram durante o estudo. Inicialmente os animais foram caracterizados individualmente com identificação pelo número do brinco. Com isso, por meio de arquivos coletou-se os dados do último parto e assim a classificação dos animais em cada tratamento foi efetivado. Para a referida pesquisa, foram realizadas análises mensalmente em todos os animais em lactação de março a agosto de 2017.

Como já descrito acima, os animais durante todo o período experimental foram submetidos ao mesmo manejo nutricional, independente da raça, fase de lactação e produção. Os animais receberam diariamente 7 kg de concentrado comercial com 20% de PB, 20 kg de silagem de milho, 1 kg de farelo de soja e 200 gramas de sal mineral leite padrão. Durante o dia e à noite os animais eram submetidos a pastejo de aveia e azevém, onde diariamente consumiam em média 35 kg de matéria verde. Totalizando um consumo diário de matéria seca em torno de 18,6 kg e um teor de proteína da dieta total de 17%.

Na propriedade, individualmente por vaca, foram realizadas as seguintes análises:

Álcool alizarol: Em recipiente esterilizado adicionou-se 2 ml de alizarol 72% juntamente com 2 ml de leite, agitando-se lentamente e observando posteriormente o aspecto do líquido, estando normal apresentará as paredes do tubo sem grumos ou grumos muito finos com coloração vermelho-tijolo. Um leite fora dos padrões de qualidade apresentará formação de grumos, flocos ou coágulos grandes e a coloração entre amarela e marrom, caso a coloração fique entre lilás e violeta existe indícios

soluções fraudulentas. As amostras que reagiram negativamente nessa etapa foram descartadas.

Álcool etílico 72%: Misturando 2 ml de álcool etílico com 2 ml de leite em um tubo de ensaio, posteriormente observa-se o aspecto do leite, se ocorrer formação de grumos ou coágulos a amostra é positiva para instabilidade.

Acidez titulável: Com a utilização de um acidímetro *Dornic*. Sob ponto quantitativo se estabelece acidez da amostra, em um Becker adiciona-se 10 ml de leite, com 4 gotas de fenolftaleína, agitou-se e titulou a acidez contra a solução *Dornic*.

PH: Utilizando um pHmêtro eletrônico digital que de forma rápida após o contato do aparelho com a amostra de leite indicou os resultados.

Além disso, amostras foram coletadas, armazenadas em caixas isotérmicas e transportadas. Fora da propriedade as análises realizadas foram de fervura, sendo adicionados 5 mL de leite ao tubo de ensaio e aquecido em fogo baixo até a fervura, agitando constantemente, para um leite normal não ocorre precipitação e/ou coagulação, quando ocorre o contrário tem-se a detecção do LINA. Todas as amostras foram submetidas também a análises de gordura e proteína, estabelecidas através do equipamento Ekomiilk M®.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, distribuído em esquema fatorial (raça x fases de lactação), com número de repetições variáveis. Os dados coletados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância com auxílio do pacote estatístico Genes.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estudo 1

Para o primeiro estudo, foram analisadas 3.654 amostras, correspondentes a três rotas de coleta da indústria, no período de dois anos. O número de propriedades leiteiras é variável a cada estação avaliada, isso ocorreu devido ao número de produtores que entraram e saíram da atividade durante o período avaliado, entretanto, ficou evidenciado que, as propriedades ativas durante os períodos nas respectivas linhas avaliadas foram amostradas em sua totalidade, independentemente do sistema de produção e grau de tecnificação dos produtores. Verifica-se que os períodos de outono nos dois anos e o verão do segundo ano avaliado, apresentam um número acima de 50 propriedades produzindo leite LINA, assim, indicando por meio de dados absolutos os períodos de maior ocorrência (Figura 1).

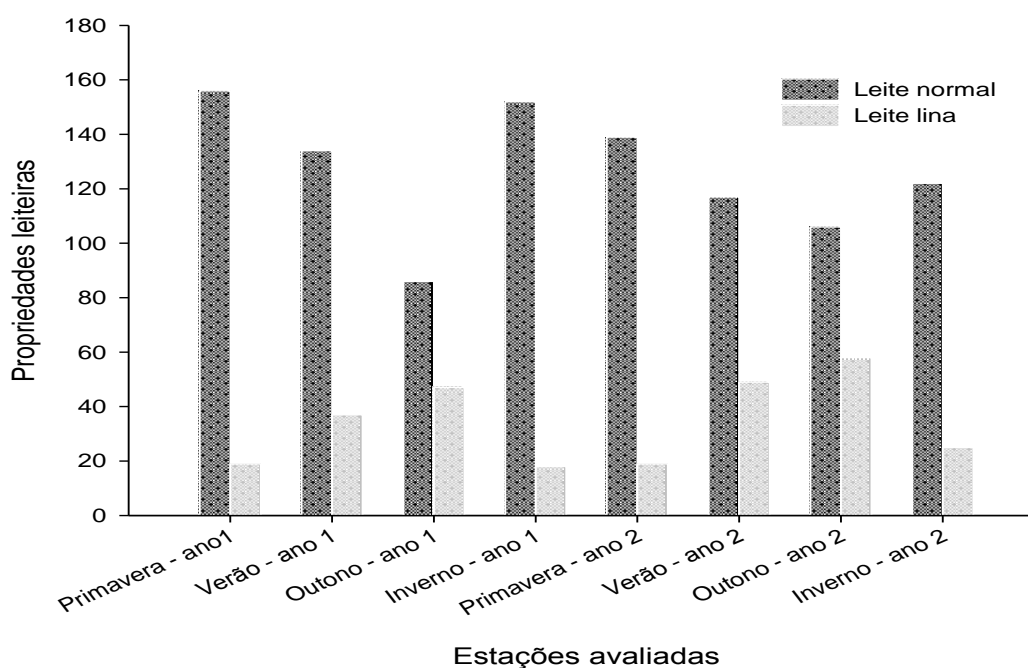


Figura 1. Número de propriedades com incidência de leite normal e de LINA na região Sudoeste do Paraná - 2017.

Observa-se novamente maior incidência ao longo do outono nos dois anos avaliados (38 e 37% para o primeiro e segundo ano respectivamente) (FIGURA 2). Referindo-se à época de incidência resultados similares foram verificados por

Marques et al. (2007) onde avaliando amostras durante os anos de 2002 e 2003 na região de Pelotas – RS, oriundas de gado holandês criados em sistema extensivo obtiveram o maior percentual de incidência durante o outono, chegando a atingir 77,88% das amostras positivas pra LINA. Zanela et al. (2009) na região Noroeste do Rio Grande do Sul também obtiveram os maiores índices durante o outono (74,7%). Como as amostras eram de rebanho criado a campo e da raça holandesa coincidiram o alto percentual de LINA ao período de menor disponibilidade de alimentos. Lopes (2008) pesquisando sobre incidência de LINA na região de Casa Branca – São Paulo, também observou influência da sazonalidade nos percentuais de amostras positivas, neste estudo os maiores índices foram nos meses de Junho e Julho, período seco na região e de baixa produção de forragens. Wernecke (2012) também afirma existir uma associação entre a presença de LINA e as estações do ano que apresentam entressafras de pastagem.

A ocorrência de instabilidade do leite não foi homogênea durante as estações do ano. Menores percentuais foram encontrados na primavera de ambos os anos (11% e 14%, respectivamente). É possível observar que a incidência varia ao longo dos meses, porém não se pode afirmar padrões sobre estabilidade, pois as condições climáticas características de rebanho variam de região para região.

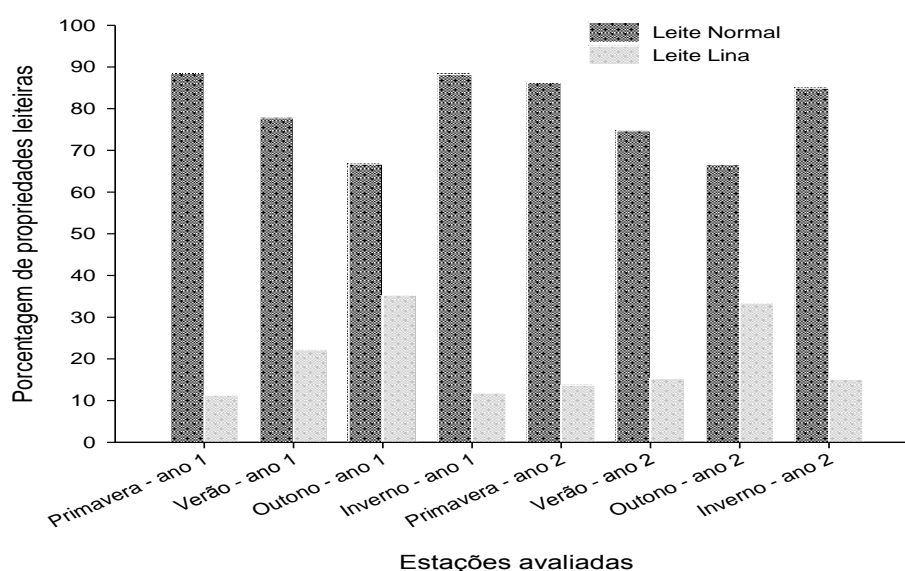


Figura 2. Valores percentuais de propriedades produzindo leite Normal e LINA, sobre o número total de propriedades amostradas, ao longo de dois anos de avaliação.

Quanto à composição do leite, verificou-se interação significativa ($P < 0,05$) para os percentuais de gordura e proteína ao longo das estações avaliadas (Tabela 1). No leite normal, os valores foram similares tanto para gordura quanto para proteína ao longo do período de avaliações. No entanto, para o LINA, o menor teor de gordura foi observado na primavera no primeiro ano, não se diferenciando dos dois verões e da primavera e do inverno no segundo ano. Ao analisarmos a composição entre os leites (normal e LINA), verificaram-se maiores percentuais de gordura para o leite LINA nos verões, nos outonos, no primeiro inverno e na primavera do segundo ano. Resultado esse, similar ao encontrado por Oliveira e Timm (2006) onde após analisarem 282 amostras de leite da região Sul do Brasil, observaram que a maior variação na composição do leite normal para o LINA foi no teor de gordura, onde em média o leite estável apresentou 3,04% de gordura na composição e o instável 3,30%. Marques et al. (2007) encontraram índices ainda maiores nos teores de gordura no leite instável, onde a média do estudo foi de 3,62% de gordura do leite LINA para 3,52% no leite normal. Aumento no percentual de gordura quando comparado o leite LINA ao normal, também foi verificado por outros autores (BARROS, 2001, PONCE; HERNÁNDEZ, 2001; ZANELA et al., 2006)

Em contrapartida Gonzales et al. (2004) e Martins et al. (2006) não observaram efeito nos teores de gordura quando compararam leite normal ao LINA durante os meses do ano. Zanella et al. (2009) em trabalho realizado em Panambi - RS, avaliando 2.205 amostras de leite, também não observaram variação significativa entre o leite normal e o LINA quanto ao teor de gordura.

Os teores de proteína no leite normal apresentaram-se estáveis ao longo dos anos avaliados (Tabela 1), para o LINA, maior teor foi verificado no outono do segundo ano, não diferenciando dos verões, invernos e outono do primeiro e primavera do segundo ano. Analisando os tipos de leite, foi verificado menores teores para o leite normal apenas na primavera e verão do segundo ano avaliado. Similaridade entre os teores de proteína para os leites normal e LINA foram apresentados por Sobhani et al. (1998), Negri et al. (2001). No entanto, Zanela et al. (2009) e Ponce Ceballo e Hernandez (2001) verificaram redução nos teores de proteína no LINA.

Tabela 1. Interação entre estações do ano e percentual de gordura e proteína em leite normal ou LINA em propriedades leiteiras no Sudoeste do Paraná.

		Gordura (%)							
Leites	Pri - 1	Ver - 1	Out - 1	Inv - 1	Pri - 2	Ver - 2	Out - 2	Inv - 2	
Normal	3,79Aa	3,78Ab	4,00Ab	3,89Ab	3,79Ab	3,76Ab	3,99Ab	3,88Aa	
LINA	3,94Ba	4,03ABa	4,30Aa	4,33Aa	4,14ABa	4,09ABa	4,28Aa	4,03ABa	
		Proteína (%)							
Normal	3.15Aa	3.19Aa	3.29Aa	3.23Aa	3.13Ab	3.13Ab	3.29Aa	3.26Aa	
LINA	3.15Ba	3.20ABa	3.31ABa	3.22ABa	3.21ABa	3.20ABa	3.33Aa	3.22ABa	

Letras diferentes, maiúsculas na HORIZONTAL e minúsculas na VERTICAL, diferem pelo Teste Tukey, a 5% de significância.

Para os valores de lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado (ESD), não foram verificadas interações significativas ($p > 0,05$) (Tabela 2). Assim, analisou-se o tipo de leite e os períodos separadamente. Para as estações não foram encontradas diferenças significativas ao longo do estudo, apresentando médias de 4,27; 12,46 e 8,42% para lactose, sólidos totais e EST, respectivamente. Quando comparados o leite normal e o LINA, verificou-se similaridade para sólidos totais e menores teores de lactose e ESD no leite com instabilidade. O decréscimo no percentual de lactose no LINA foi de 1,09%. Resultado similar, foi encontrado em pesquisas realizadas por Sobhani et al. (1998); Barros et al. (1999); Ponce e Hernández (2001); Zanela (2004) e Oliveira (2003).

Tais resultados ocorreram possivelmente em função da carência alimentar que os rebanhos da região sofrem durante as entressafras de pastagens. Oliveira e Timm (2006), levantam a hipótese que uma alimentação rica em fibras, poderia estar relacionada com a instabilidade do leite e as alterações em sua composição.

Para a contagem de células somáticas (CCS) e contagem de bactérias totais (CBT) não foram verificadas interações significativas ($P > 0,05$), sendo analisados o tipo de leite e o período individualmente (Tabela 3).

Tabela 2. Valores percentuais de lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado (ESD) no leite normal e LINA em propriedades no Sudoeste do Paraná.

Leite	Lactose	Sólidos Totais	ESD
Normal	4,42a	12,45 ns	8,58 ^a
LINA	4,12b	12,48	8,27b
CV (%)	1,09	2,12	0,91
Estações avaliadas			
Primavera – 2014	4,28 ns	12,42 ns	8,35 ns
Verão – 2015	4,27	12,29	8,38
Outono - 2015	4,24	12,64	8,49
Inverno – 2015	4,29	12,56	8,45
Primavera – 2015	4,31	12,40	8,43
Verão – 2016	4,26	12,27	8,34
Outono – 2016	4,22	12,62	8,48
Inverno – 2016	4,32	12,49	8,48
CV (%)	1,40	2,12	0,89

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 3. Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem de bactérias totais (CBT) em amostras avaliadas no Sudoeste do Paraná.

Leite	CCS (1000célis/mL)	CBT (1000UFC/mL)
Normal	653,43b	1029,15 ns
LINA	1143,02a	1143,02
CV (%)	20,73	24,11
Estações avaliadas		
Primavera – 2014	922,26 ns	1355,09ab
Verão – 2015	1030,73	1252,33ab
Outono - 2015	809,98	1027,26ab
Inverno – 2015	999,03	1331,80ab
Primavera – 2015	834,17	1349,19ab
Verão – 2016	891,45	1146,17ab
Outono – 2016	860,15	695,69b
Inverno – 2016	838,05	1678,74 ^a
CV (%)	21,52	36,62

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Munidos do resultado do estudo inicial, em que se verificou maior incidência de casos de LINA nos períodos de outono, optou-se por tentar estratificar os

responsáveis pelos casos. Em pesquisa realizada por Oliveira et al. (2011) em um trabalho realizado em um laticínio no estado do São Paulo, onde avaliaram 451 amostras divididas entre período chuvoso e seco da região, concluíram que o leite estável apresentou menor número de células somáticas quando comparado ao LINA independente do período do ano. Sabedot et al. (2011) em seu trabalho relacionado a composição do leite nas diferentes épocas do ano, evidenciaram a ocorrência de aumento nos valores de CCS são simultâneos a acréscimos na porcentagem de gordura.

Para a CBT, não foi verificada diferença significativa entre os tipos de leite, ao observarmos os resultados ao longo das estações, verificou-se maior valor para o inverno do segundo ano. Tais resultados podem ser variáveis, pois não apresentam uma relação direta com o metabolismo de síntese do leite, e sim, relacionam-se ao meio externo, de retirada e acondicionamento do produto.

5.2 Estudo 2

A incidência de LINA no rebanho estudado apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) entre as raças e fases de lactação (Tabela 4). Maior percentual foi verificado em vacas da raça holandesa com lactação entre 101 e 200 dias (78,95% das amostras), em contrapartida, os menores valores percentuais foram identificados no rebanho Jersey, independentemente dos dias em lactação (em média 14,64%).

Diversos autores indicam a fase 1 (0 a 100) dias ser a de maior ocorrência de instabilidade, porém no presente trabalho os animais da raça holandesa apresentaram maior instabilidade e durante a segunda fase de lactação, associou este resultado ao pico de produção dos animais com o baixo escore corporal que apresentavam na fase, na primeira fase os animais ainda não estavam atingindo pico máximo de produção e possuíam um depósito de gordura obtido no período seco. Diferentemente do presente estudo, Barros et al. (1999) e Marques et al. (2010) observaram maior números de amostras positivas no teste do álcool no início da lactação, sendo justificado devido a baixa estabilidade do colostro.

Tabela 4. Valores percentuais de leite Normal e LINA em vacas das raças Holandês (H) e Jersey (J), separadas em função dos dias em lactação.

Raça	Leite Normal	Leite LINA
Raças*		
Jersey	85,08 a	14,92 b
Holandês	48,83 b	51,16 a
CV(%)	25,82	32,33
Dias em Lactação**		
H – 0 a 100	57,95 c	42,45 b
H - 101 a 200	21,01 d	78,95 a
H - Acima de 200	67,51 bc	32,49 bc
J – 0 a 100	85,45 a	14,55 d
J - 101 a 200	81,10 ab	18,9 cd
J - Acima de 200	88,7 a	11,30 d
CV (%)	14,34	29,98

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste F* ou pelo teste de Tukey** a 5% de significância.

Verificou-se que no período compreendido entre 0 e 100 DEL (Figura 3A) o percentual de vacas produzindo leites estável e instável ficou próximo dos 50% durante grande parte do período avaliado (março, abril, junho e agosto) enquanto que, para vacas entre 101 e 200 DEL (Figura 3B) os percentuais de animais produzindo LINA mostraram-se sempre superiores, chegando a valores acima de 90% nos meses de junho e agosto. Tal fato coincidiu com o período de maior produção desses animais, consequentemente um escore de condição corporal mais baixo, o que nos sugere a maior incidência de LINA em animais com déficit nutricional ou de dieta desbalanceada.

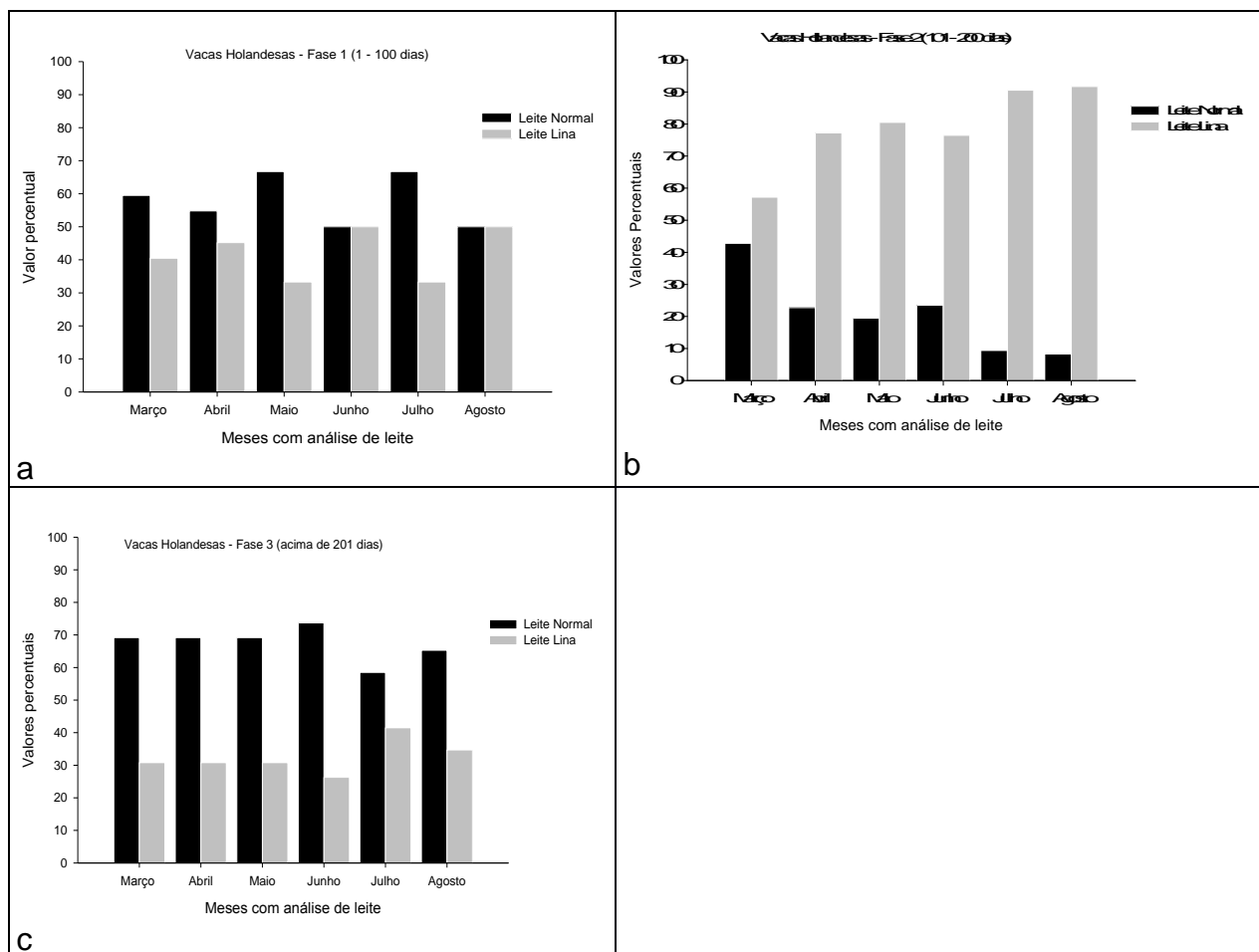


Figura 3. Incidência de LINA (%) em vacas da raça holandesa de 0 a 100 dias em lactação (A), de 101 a 200 dias de lactação (B) e acima de 201 dias em lactação (C) no Sudoeste do Paraná 2017.

Para as vacas da terceira fase (acima de 201 DEL), observou-se que os índices de produção de LINA em vacas holandesas (figura 3 C) ficaram entre 30 e 40%, sendo os valores mais baixos quando analisadas vacas holandesas exclusivamente, possivelmente em função de um balanço energético positivo, onde a dieta dos animais permaneceu igual as da fase 2 mesmo tendo produções mais baixas.

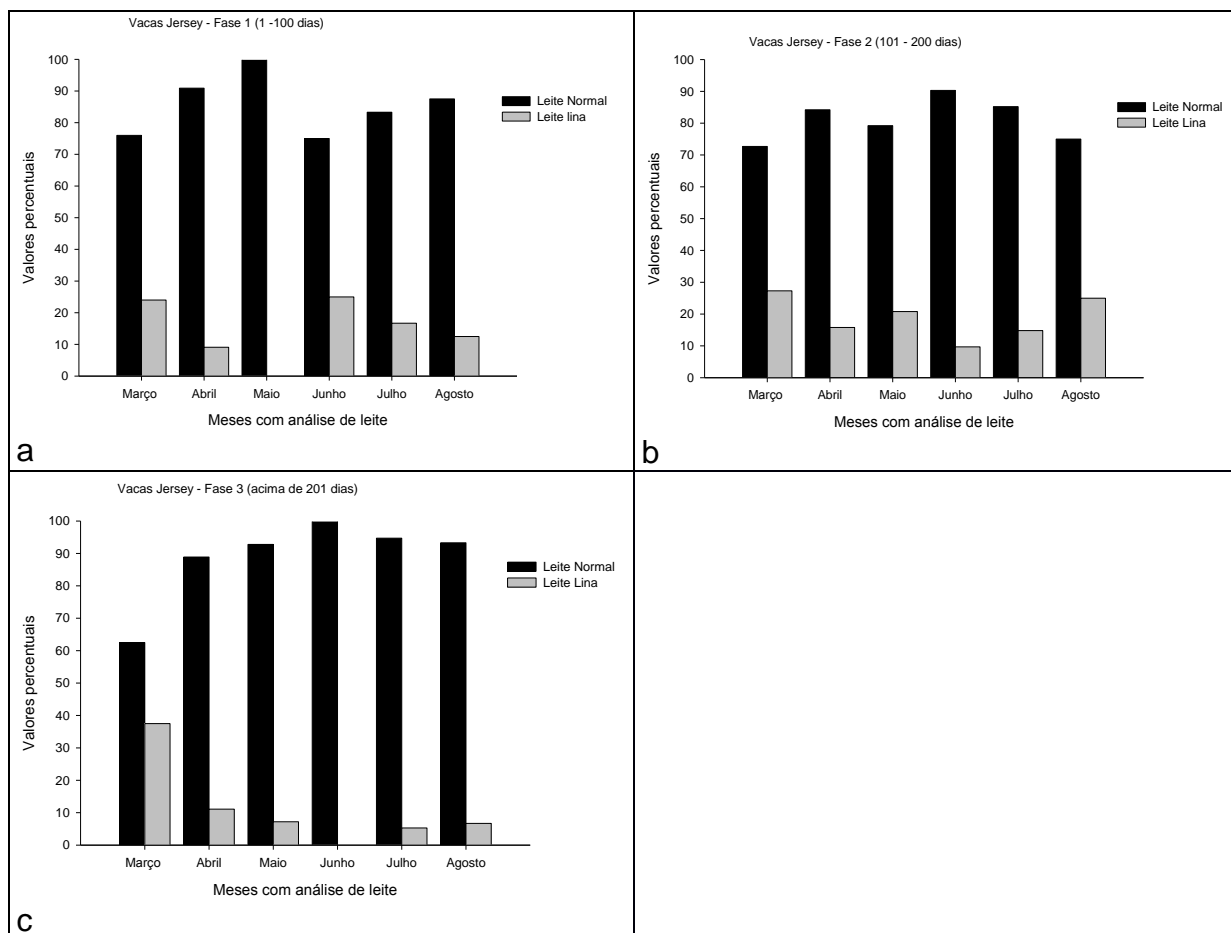


Figura 4. Incidência de LINA (%) em vacas da raça Jersey de 0 a 100 dias em lactação (A), de 101 a 200 dias de lactação (B) e acima de 201 dias em lactação (C) no Sudoeste do Paraná, 2017.

Quando analisadas exclusivamente vacas da raça Jersey (Figura 4), verificou-se, independentemente da fase de lactação, que os percentuais de animais produzindo LINA são inferiores às vacas da raça Holandês, ficando em média abaixo de 20% de incidência, possivelmente em função da produção em litros ser inferior aos animais da raça holandesa e por não apresentarem durante o experimento ECC baixo e também como já apresenta a literatura nos estudos de composição o leite de animais da raça Jersey apresentam maior estabilidade da caseína.

Robitaille et al., (2001) avaliaram o efeito da expressão dos alelos de k-caseína quanto a estabilidade do leite após contato com o álcool, e concluíram que o leite de animais da raça Jersey necessitou uma maior concentração de álcool para se tornar instável, já a porcentagem de instabilidade do leite de animais da raça holandesa foi maior desde a primeira concentração de etanol.

As variáveis DEL, acidez, pH, gordura e proteína, não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) ao longo do período, sendo similar para leite normal e LINA. Resultado semelhante ao encontrado por OLIVEIRA (2003), onde não detectou diferença na composição do leite estável e instável durante o ano.

Sendo assim, essas variáveis foram analisadas comparativamente para raças e fases de lactação (Tabela 5). Quando aos DEL, verificou-se diferença significativa para as fases de lactação, esse resultado era necessário para comprovar a correta divisão dos grupos no presente estudo.

Tabela 5. Médias de dias em lactação (Del), acidez, pH, gordura e proteína no leite produzido por vacas em lactação das raças Holandês e Jersey submetidas ao mesmo manejo no Sudoeste do Paraná.

Fases da lactação	Del	Acidez (%)	pH	Gordura (%)	Proteína (%)
0 – 100 Del	62 c	0,156 ns	6,63 ns	4,03 ns	3,31 ns
101–200 Del	142 b	0,155	6,65	4,17	3,33
+ de 200 Del	294 a	0,155	6,64	4,03	3,34
CV (%)	35,25	5,74	1,43	13,26	9,15
Raça					
Holandês	160 ns	0,155 ns	6,63 ns	3,96 b	3,30 ns
Jersey	172	0,156	6,64	4,20 a	3,35
CV (%)	39,09	5,76	1,26	14,69	9,11

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Para acidez, pH e percentuais de gordura e proteína, não foram verificadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre as fases de lactação, apresentando médias de 0,15; 6,64; 4,07 e 3,33 respectivamente. Esses valores são considerados dentro dos padrões de qualidade preconizados pela IN62 (BRASIL, 2011). Quando comparadas as raças, apenas a variável percentual de gordura apresentou diferença significativa, sendo superior nas vacas Jersey. Isso se deve pela característica genética desses animais, que tendem a produzir mais gordura no leite.

6. CONCLUSÕES

A incidência do leite instável não ácido variou de 10 a 30% em propriedades rurais do Sudoeste do Paraná variando conforme as estações do ano, apresentando pico de participação nos meses de outono.

Vacas da raça holandesa, entre 101 e 200 dias em lactação submetidas ao sistema de manejo a pasto com suplementação de concentrado, foram mais susceptíveis a produção de leite instável não ácido, quando comparadas a vacas da raça Jersey manejadas sob mesmas condições. A raça Jersey independentemente da fase de lactação apresentou baixa incidência de ocorrência de LINA.

A incidência de LINA pode estar associada não somente a fatores nutricionais, mas também a fatores genéticos e fases de lactação.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A.S. de. Leite Instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissertação (Mestrado). Porto Alegre, 2008.
- Agropecuária Brasileira: uma visão geral. Apresentação Superintendência Técnica da Confederação Nacional da Agricultura, fevereiro 2009.
- ALVES, D. R. Industrialização e comercialização do leite de consumo no Brasil. In.: MADALENA, F. E.; MATOS, L. L.; HOLANDA JÚNIOR, E. V. Produção de leite e sociedade: uma análise crítica da cadeia do leite no Brasil. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2001.
- BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite, p.44-57. In: González F.H.D., Dürr J.W. & Fontaneli R.S. (Eds), Uso do Leite para Monitorar a Nutrição e Metabolismo de Vacas Leiteiras. UFRGS, Porto Alegre, 2001.
- BARBOSA, R. S.; et al.. Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 47, n. 4, 2012.
- BARROS, L; DENIS, N; GONZALEZ, A; NÚÑEZ, A. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. Revista Prácticas Veterinarias, v.9, n. ,1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Diário Oficial da União, 19 de setembro de 2002. Disponível em www.agricultura.gov.br. Acesso em 10 de junho de 2017.
- BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 62, de 29 de dezembro de 2011. Diário Oficial da União, 30 de dezembro de 2011. Disponível em www.agricultura.gov.br. Acesso em 10 de junho de 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 7, de 03 de maio de 2016. Diário Oficial da União, 04 de maio de 2016. Disponível em www.agricultura.gov.br. Acesso em 10 de junho de 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Valor Bruto da Produção. Disponível em www.agricultura.gov.br. Acesso em 10 de junho de 2017. Brasília, 2017.
- BRITO, J. R.F. e DIAS, J.C. A qualidade do leite. Juiz de Fora/MG. Embrapa Gado de Leite. 1998.
- BRITO, J.R.F. O que são e como surgem as células somáticas no leite. In. MARTINS, C.E.; COSTA, C.N.; BRITO, J.R.F.; YAMAGUCHI, L.C.T.; PIRES, M. de F.A. MINAS LEITE I., 1999, Juiz de Fora. Qualidade e produtividade de rebanhos leiteiros. Anais... Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1999.

BURCHARD, J.F. e BLOCK, E. Nutrição do gado de leite e composição do leite. In: Simpósio Internacional sobre qualidade de leite. 1998.

CAMILO, P.J. Expansão do Agronegócio do Leite no Sudoeste do Paraná: As Tecnologias Aplicadas a Produção. XXI encontro nacional de geografia agrária, 2012.

CARVALHO. M. P., Influência da alimentação na qualidade e na composição do leite. In: Minas Leite II. Avanços tecnológicos para o aumento da produtividade leiteira. Anais. Juiz de Fora/MG. Embrapa Gado de leite. 2000.

CEBALLO, P.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físicoquímicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2001.

CHAVEZ, M.S.; NEGRI, L.M.; TAVERNA, M.A.; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. *Journal Dairy Research*, v.71, 2004.

DONATELE, D.M., VIEIRA, L.F.P. e 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 Alim.*, 2003.

DÜRR, J.W. et al. (Ed). O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo: UPF, 2004.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Gado de Leite. Estatísticas do leite, 2015. Disponível em: <<http://www.cpatu.embrapa.br/>>. Acesso em dez. 2016.

FISCHER, V. Avaliação do leite na fazenda: impacto do uso do alizarol/álcool sobre a cadeia produtiva do leite. Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, 2010.

FISCHER, V. et al. Leite instável não ácido: um problema solucionável? *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 13, n. 3, 2012.

GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001.

GONZALES, H.L. FISCHER, V. RIBEIRO, M.E. GOMES, J.F. STUMPF, J.W. SILVA, M. A. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS: efeito dos meses do ano. *Revista brasileira de zootecnia. Brazilian journal of animal science*, Viçosa. Vol. 33, n. 6, 2004.

HARDING, F. *Milk quality*. 1 ed., Glasgow: Blackie, p. 166, 1995.

HARMON, R. J. Fatores que afetam as contagens de células somáticas. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1998, Curitiba. Anais... Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998.

HOLT, C. An equilibrium thermodynamic model for the sequestration of calcium phosphate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk. *European Biophysics Journal*. V. 33. 2004.

HORNE, D.S.; PARKER, T.G. Factor affecting the ethanol stability of bovine-milk. Effect of serum phase components. *Journal of Dairy Research*. v.47,1981.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em: 18/03/2017.

KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research*, v.48, 1981.

LOPES, L. C. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Costa Branca, estado de São Paulo. Dissertação (mestrado) –Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo, 2008.

MACHADO, P.F. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. *Scientia Agricola*, v. 57, n. 2, 2000.

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

MARQUES, L.T. Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos. 2004. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS

MARQUES, L.T., Zanella M.B., Ribeiro M.E.R., Stumpf Jr. W. e Fisher V. Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos. *Rev. Bras. Agrocienc.*, 2007.

MARQUES, L.T.; FISCHER, V.; ZANELLA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JUNIOR, W.; MANZKE, N. 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, p.2724-2730, 2010.

MARTINS, P.R.G.; SILVA, C.A.; FISHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELLA, M.B. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. *Ciência Rural*, v.36, n.1, 2006.

MOLINA, L.H., GONZALEZ, R., BRITO, C., CARRILLO, B., PINTO, M. Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. *Archivos de Medicina Veterinária*. Valdivia. V.33, n.2. 2000.

MORAIS, E.D. Estudos sobre os fatores que influenciam o aparecimento do leite instável não ácido. 2011. Monografia - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite células somáticas e prevenção da mastite. In: SIMPÓSIO SOBRE A SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, II. Anais... UEM – NUPEL, 2002

NEGRI, L.; CHAVEZ, M., TAVERNA, M., ROBERTS, L.; SPERANZA, J. Factores que afectan la estabilidad térmica y la prueba de alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada. Informe técnico final Del proyecto. 2001.

OLIVEIRA, D.S. Frequência de leite com instabilidade da caseína produzido no município de Santa Vitória do Palmar, RS, Brasil. Pelotas, Dissertação (mestrado), Ufpel, 2003.

OLIVEIRA D.S. e TIMM C.D. Composição do leite com instabilidade da caseína. Cienc. Tecnol. Alim., 2006.

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

OLIVEIRA, C.A.F.; LOPES, L.C.; FRANCO, R.C.; CORASSIN, C.H. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v.12, n.2, 2011.

OLIVEIRA, M. D. S.; MORAES, C. M.; ROOS, T. B.; BERMUDEZ, R. F.; TIMM, C. D. Ocorrência de leite com instabilidade da caseína em Santa Vitória do Palmar, RS. Revista Bras. Cien. Vet., v. 14, n. 2, 2007.

PARANÁ. Secretaria da Agricultura e Abastecimento - SEAB. Paraná: Segundo maior produtor de leite no País. Disponível em www.agricultura.pr.gov.br. Acesso em 10 de junho de 2017. Curitiba, 2016.

PICOLI, T.; ZANI, J.L.; BANDEIRA, F.S.; ROLL, V.F.B.; RIBEIRO, M.E.R.; VARGAS, G.D.; HUBNER, S.O.; LIMA, M.; MEIRELES, M.C.A.; FISCHER, G. Manejo de ordenha como fator de risco na ocorrência de microorganismos em leite cru. Semina. v.35, 2014.

PINHEIRO, A. A.; BRITO, I. F. Bem estar e Produção Animal. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: www.embrapa.br. Acesso em 10 de junho de 2017.

PINNA, M.H., LIZIEIRE, R. S., Leite de Qualidade. Revista do Conselho Federal de Medicina veterinária, Brasília, v.21, 2000.

PONCE CEBALLO, P. Síndrome do leite anormal e qualidade do leite. In: Curso on line sobre qualidade do leite do Instituto Fernando Costa. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acessado em: 10 de junho de 2017.

PONCE CEBALLO, P.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físicoquímicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Ed. Félix H.D. González et al., 2001.

REIS, C. B. M.; BARREIRO, J. R.; MESTIERI, L.; PORCIONATO, M. A. F.; SANTOS, M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *Veterinary Research*, v. 9, 2013.

RIBEIRO, M.E.R., STUMPF JUNIOR, W., BUSS, H. Qualidade de leite. In: BITENCOURT, D., PEGORARO, L.M.C., GOMES J.F. Sistemas de pecuária de leite: uma visão na região de Clima Temperado. Pelotas: Embrapa Clima temperado, 2000.

RIEL, R. Composición y estructura físico-química de la leche. Ed. Acribia S.A. Espanha, pp. 1-54, 1991.

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

RODRIGUES, Thiago Francisco. Produção de leite no Brasil, a evolução não pode parar. Disponível em www.cnabrasil.org.br. Acesso em 10 de junho de 2017. Brasília, 2017.

ROMA JUNIOR, L.C.; ZAGO, C.A.; RODRIGUES, A.C.O.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F. Estudo da proteína do leite em termos de qualidade e quantidade. Disponível em: <http://www.terraviva.com.br> Acesso em 10/06/2017.

SABEDOT, M.A.; POZZA, M.S.S.; POZZA, P.C.; ALMEIDA, R.Z.; NUNES, R.V.; ECKSTEIN, I.I. Correlação entre contagem de células somáticas, parâmetros microbiológicos e componentes do leite em amostras de leite in natura. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, v.14, n.2, 2011.

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

SILVA, P.H.F. da. Leite: aspectos de composição e propriedades. *Revista Química Nova na Escola*, n.6, p. 3-5, Nov. 1997.

SILVA, P.H.F. da, PEREIRA, D.B.C., OLIVEIRA, L.L., COSTA JÚNIOR, L.C.G. Físico-química do leite - Métodos analíticos. Juiz de Fora: Gráfica Oficina de Impressão, 1997. 190 p.

SILVA, P.H.F. Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e gelificação. Tese (doutorado em ciências dos alimentos). Universidade Federal de Lavras. UFLA. 2003.

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, 1998.

STOFELL, J. A; TRENTIN, H. R. Importância da renda da produção de leite para propriedades de agricultura familiar. II Seminário Internacional de Integração e Desenvolvimento Regional: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Ponta Porã, 2014.

TRIEBOLD, H. O.; AURAND, L. W.; Food composition and analysis. Reinhold Company, 1969. p.315-321.

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

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

VOLPI, R. Aspectos econômicos da produção para e dados estatísticos. FAEP, 2008. Boletim Informativo nº 997.

WALSTRA, P. & JENNESS, R. Química y física lactológica. Editorial Acribia (Zaragoza. 1984.

WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal*, v. 9, p. 189-192, 1999.

WERNCKE, D. Perfil das propriedades e ocorrência de leite instável não ácido na região do vale do braço do norte, sul do estado de Santa Catarina. Dissertação de mestrado (Produção Animal). Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC. 2012.

WINCK, C. A.; MACHADO, J. A. D. Impactos do programa de pagamento pela qualidade do leite em uma cooperativa da região Oeste de Santa Catarina, 50º Congresso da Sober, 2012.

ZANELA, M.B. Caracterização do leite produzido no Rio Grande do Sul, ocorrência e indução experimental do leite instável não ácido (LINA). Tese (Doutorado) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS. 2004.

ZANELLA, M.B., FISCHER, V., RIBEIRO, M.E.P., STUMPF JR, W., ZANELA, C., MARQUES, L.C., MARTINS, P.R.G. Qualidade do Leite em sistemas de produção na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.41, jan. 2006. Disponível em: www.scielo.com.br. Acesso em 10 de junho de 2017.

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, 2009.

ZOCCAL, Rosângela. Mercado de Lácteos no Brasil: Exportação e Importação. Disponível em www.embrapa.br/embrapagadodeleite. Acesso em 02 de Março de 2017. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2017

ZOCCAL, Rosângela. Paraná: Um Estado cada vez mais leiteiro. Disponível em www.embrapa.br/embrapagadodeleite. Acesso em 02 de Março de 2017. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2017.

ANEXOS



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
Câmpus Dois Vizinhos
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA



PROJETO DE PESQUISA / AULA PRÁTICA

Título:	Incidência de Leite Instável Não Ácido em Sistemas de Produção no Sudoeste do Paraná
Área Temática:	Produção Animal – Bovinocultura leiteira
Pesquisador / Professor:	Magnos Fernando Ziech
Instituição:	UTFPR/ Câmpus Dois Vizinhos
Financiamento:	Não há
Versão:	02

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CEUA	Protocolo nº 2016-037
<p>Apresentação do Projeto: O projeto tem por objetivo avaliar a incidência de Leite Instável Não Ácido (LINA), uma vez que sua ocorrência denota prejuízo aos produtores por ser descartado pelas empresas coletoras. Para tanto, serão utilizadas duas propriedades: propriedade 1- consiste num rebanho de vacas Holandesas (60%) e Jerseys (40%), recebendo as mesmas dietas alimentares e mesmo manejo de ordenha; propriedade 2- consiste num rebanho de vacas holandesas apenas, sendo as mesmas divididas em grupos por período de lactação, referente ao que, as dietas estarão associadas, recebendo alimentos relativos à dieta de semi-confinamento ou a pasto. Em ambas propriedades as variáveis analisadas serão: pH, teste de álcool alizarol a 72 graus, prova do álcool a 72 graus, teste de fervura, acidez titulável. Segundo os autores, o leite será extraído do tanque de expansão, após homogeneização. Os dados serão divididos em grupo de raças (Holandês e Jersey), tipo de manejo alimentar (semi-confinamento ou pasto) e fase de lactação, usando-se os animais que as propriedades apresentam, e as amostras de leite serão coletadas segundo a Instrução Normativa (MAPA) 62/2011, a cada 30 dias. Para os dados quantitativos, utilizarão o programa estatístico GENES, esperando identificar a(s) variável (eis) que resultam neste tipo de produto</p>	
<p>Objetivo: Verificar a composição do leite normal, comparado ao Leite Instável Não Ácido; Avaliar a incidência de Leite Instável Não Ácido em animais que estão no mesmo período de lactação e, que, são submetidas ao mesmo manejo alimentar, porém, são de raças diferentes; Comparar a incidência de Leite Instável Não Ácido em animais submetidos ao mesmo manejo alimentar, porém, em fases de lactação distintas; Analisar a incidência de Leite Instável Não Ácido em animais que estão no mesmo período de lactação, todavia, são submetidas a sistemas de manejos de alimentação diferenciados; Quantificar a incidência de Leite Instável Não Ácido nos animais analisados no referido estudo.</p>	
<p>Avaliação dos Riscos e Benefícios: Riscos: O manejo adotado é exclusivamente o manejo zootécnico de propriedade leiteira, uma vez que os animais são conduzidos à ordenha, local onde serão coletadas as amostras. Assim, os riscos que podem ocorrer, são os mesmos que podem, eventualmente, ocorrer em uma propriedade qualquer, lembrando sempre que, as vacas leiteiras são muito sensíveis a alterações de rotina, o que pode influenciar na produção, retenção de leite e desconforto por parte do animal por compressão da glândula mamária e ocasionar infecção mamária. Benefícios: Quanto menor o manejo com os animais, mais conforto os mesmos terão, influenciando no bem estar e produção.</p>	



Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
A pesquisa em questão vem tentar identificar qual ou quais fatores podem interferir na produção de leite instável não ácido, auxiliando na condução do manejo de produção leiteira.
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
Foram apresentados os seguintes termos e documentos: 1) Requerimento preenchido completamente e assinado pelo pesquisador responsável pelo projeto/aula prática; 2) Formulário unificado de encaminhamento do CEUA/UTFPR/DV; 3) Projeto de pesquisa completo no modelo da PROPPG-CEUA; 4) Declaração de não início do projeto 5) registro de projeto junto a Diretoria responsável (anuência da DIRPPG); 6) declaração do veterinário responsável, com anuência do Coordenador do projeto; 7) apresentação do TCLE.
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
Não há.
Situação Do Parecer:
APROVADO
Considerações Finais a Critério da CEUA:
Todos os procedimentos devem seguir a lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Incidência de Leite Instável Não Ácido em Sistemas de Produção no Sudoeste do Paraná", protocolo nº 2016/037, sob a responsabilidade de **Magnos Fernando Ziech** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UTFPR) da UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, em reunião de 13/12/2016.

Vigência do projeto:	01/03/2017 a 01/08/2017
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Espécie/linhagem:	Bovinos/ Raças Holandesa e Jersey
Número de animais:	165 animais (propriedade 1 mais propriedade 2)
Peso/Idade:	Idade de dois a seis anos peso médio de 500 a 650 Kg
Sexo:	Fêmeas
Origem:	Propriedades Rurais do Sudoeste Paranaense – Mangueirinha e Verê

Dois Vizinhos, 19 de dezembro de 2016.

Assinado por:

Nédia de Castilhos Ghisi

Nédia de Castilhos Ghisi
Presidente do CEUA - UTFPR
Comissão de Ética no
uso de Animais