



Foto: Maira Balbinoti Zanela

COMUNICADO  
TÉCNICO

356

Pelotas, RS  
Julho, 2018

**Embrapa**

# LINA - Leite Instável Não Ácido

Maira Balbinoti Zanela  
Maria Edi Rocha Ribeiro

# LINA - Leite Instável Não Ácido<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Maira Balbinoti Zanela, médica-veterinária, doutora em Zootecnia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Maria Edi Rocha Ribeiro, médica-veterinária, mestre em Veterinária, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

## Qualidade do leite

Qualidade do leite é um termo amplo que corresponde a uma série de características da matéria-prima que influenciam no valor nutricional, rendimento e segurança dos derivados lácteos produzidos.

Vários fatores interferem de forma complexa na qualidade do leite, entre os quais: fator genético (espécie, raça dos animais, individualidade animal), fatores intrínsecos do animal (idade, estágio de lactação, número de lactações), fatores nutricionais (tipo de alimento e disponibilidade, forma de conservação, adequação da dieta às exigências do animal), fatores ambientais (condições ambientais, estresse, estação do ano, manejo), fatores extrínsecos (sanidade, contaminação bacteriana) (Zanela et al., 2011), etc. De forma geral, a qualidade do leite é resultado do equilíbrio do sistema de produção de leite.

Este documento tem como objetivo descrever os resultados de pesquisa sobre o leite instável não ácido (LINA), a metodologia de diagnóstico, os fatores predisponentes e as estratégias de controle.

## LINA

LINA (Leite Instável Não Ácido) é uma alteração na qualidade do leite resultante do desequilíbrio no sistema de produção. A principal alteração identificada é a perda da estabilidade da caseína ao teste do álcool, resultando em precipitação positiva, sem haver acidez elevada (acima de 18 °D) (Zanela, 2004).

Os primeiros registros de precipitação de leite cru à prova do álcool ocorreram na Holanda, em 1930. Alterações na estabilidade do leite foram identificadas em diferentes países como no Irã (Sobhani et al., 1998), em Cuba (Ponce, 1999), no Uruguai (Barros et al., 1999), Argentina (Negri et al., 2001), Japão (Yoshida, 1980), Itália (Pecorari et al., 1984), Bolívia (Alderson, 2000) e no Chile (Barchiesi-Ferrari et al., 2007).

No Brasil, os trabalhos iniciaram-se em 2002 na Embrapa Clima Temperado, e atualmente o diagnóstico do LINA já foi confirmado em diversos estados do País (Figura 1): Rio Grande do Sul (Zanela, 2004; Marques, 2004; Machado, 2010; Suñé, 2010), Santa Catarina (Abreu, 2008; Werncke, 2012; Thaler Neto et





**Figura 3.** Leite normal (*esquerda*) e leite instável (*direita*).

A prova do alizarol apresenta uma variação com relação ao teste do álcool por apresentar alizarina na sua constituição, que muda de cor conforme o pH do leite. Em casos de pH extremos, essa mudança é perceptível, entretanto, quando a faixa de pH encontra-se próxima da faixa normal do leite (6,6 a 6,8) a mudança na coloração é pequena, causando dúvidas e insegurança na avaliação do resultado.

## Diagnóstico do LINA

A primeira providência quando ocorre um caso de rejeição do leite pelo transportador (quando o leite é positivo no teste do álcool) é diferenciar se o caso é LINA ou leite ácido. O LINA não é leite ácido. Os fatores que causam são diferentes e as formas de solução dos problemas também. O leite ácido

é causado pela ação bacteriana na degradação da lactose (açúcar do leite), transformando-a em ácido lático e elevando a acidez do leite (acidez titulável  $>18$  °D ou  $\text{pH} < 6,6$ ). No caso de leite ácido, a solução do problema passa pela obtenção higiênica do leite e pelo resfriamento adequado ( $4$  °C).

A seguir será apresentado um fluxograma para auxiliar no diagnóstico do LINA (Figura 4) e posteriormente serão discutidas as causas e soluções para o mesmo.

Algumas informações importantes a serem consideradas na realização dos testes são:

- Agitação do leite: estudos preliminares indicam que a agitação inadequada do leite do tanque de resfriamento pode interferir no resultado do teste do álcool e influenciar

## FLUXOGRAMA PARA DIAGNÓSTICO DO LINA

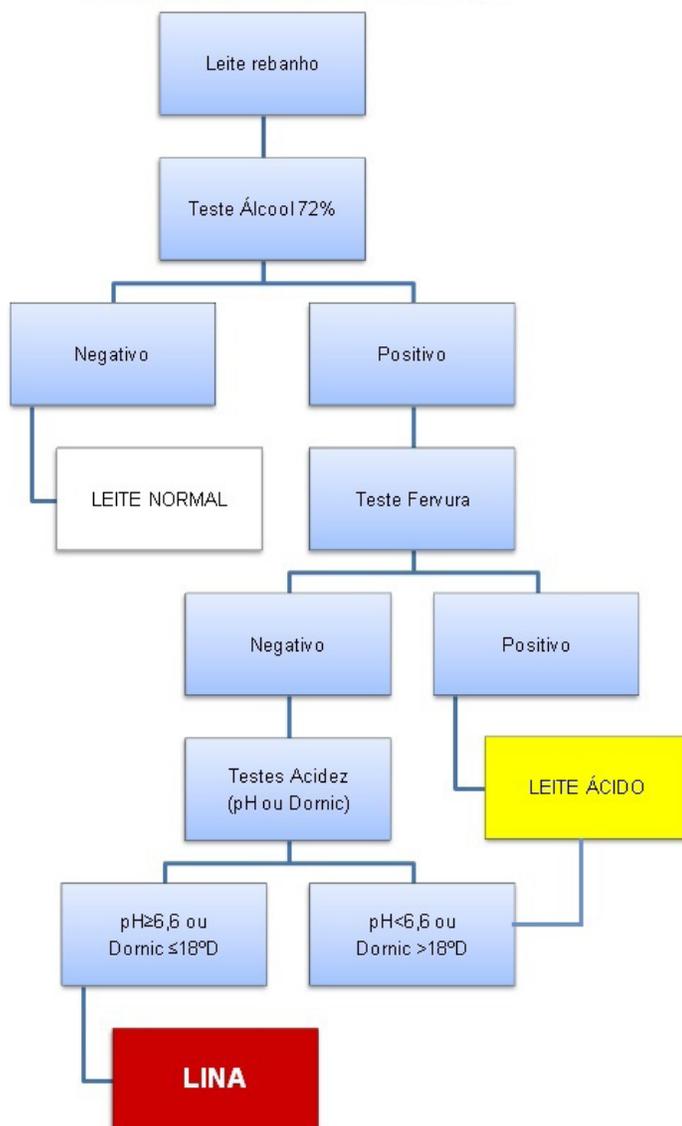


Figura 4. Fluxograma de diagnóstico do LINA. Fonte: Maira Zanela.

na ocorrência do LINA (Angelo et al., 2017).

- O teste não deve ser realizado no leite recém-ordenhado: logo após a ordenha o leite possui CO<sub>2</sub> natural, que pode resultar em falsos positivos.
- Recomenda-se que as amostras de leite coletadas sejam acondicionadas em geladeira com frascos destampados para a volatilização do gás carbônico, e analisadas em torno de 4-6 horas após a ordenha. Essas recomendações servem tanto para amostras individuais como para as amostras de tanque de resfriamento (Ribeiro et al., 2008).
- Concentração do álcool utilizada: quanto maior a concentração do álcool (72%, 74%, 76%, 78%, 80%...), maior é a ação desidratante do álcool sobre a caseína do leite, por isso, maior a ocorrência de LINA.

## SILA x LINA

Ponce e Hernandez (2001) denominaram de Síndrome do Leite Anormal (SILA) o conjunto de alterações nas propriedades físico-químicas do leite, que causam transtornos nos processos de elaboração de derivados lácteos, no seu rendimento e/ou na qualidade final,

os quais estão associados a transtornos fisiológicos metabólicos e/ou nutricionais com implicações nos mecanismos de síntese e secreção láctea.

Para se estabelecer um caso de SILA, segundo os autores, a prova do álcool deve ser positiva, e a acidez titulável deve ser menor do que 13 °Dornic, ou o pH deve ser elevado.

No caso de LINA, o leite deve ser instável ao teste do álcool, com acidez ≤18 °Dornic. Ou seja, o LINA compreende o SILA mais o leite instável dentro da faixa normal de acidez. Por exemplo: dados do noroeste do RS demonstraram que apenas 3,2% dos casos de leite instável corresponderam aos padrões estabelecidos para o SILA (Tabela 1), e que a maior parte do LINA aconteceu dentro dos limites estabelecidos como normais para acidez do leite (Zanela et al., 2009).

**Tabela 1.** Classificação do LINA no noroeste do RS de acordo com a acidez titulável, e comparação entre SILA e LINA.

Acidez titulável	%	LINA
14 - 18 'D	44,3	
13 - 14 'D	7,7	
<13 'D	3,2 = SILA	
<b>TOTAL</b>	<b>55,2</b>	

Fonte: (Zanela et al., 2009).

Entretanto, apesar da diferença metodológica de acidez do SILA e o LINA, os problemas causados pela instabilidade de leite são semelhantes, ou seja, levam à condenação do leite.

## Alterações na composição do leite

O LINA apresenta variações na sua composição com relação ao leite normal (Zanela et al., 2014). A maioria dos autores encontrou menores teores de lactose e sólidos desengordurados no leite instável, comparado ao leite normal. A menor concentração de componentes lácteos pode resultar em menor rendimento na produção de derivados lácteos.

## Sistema de produção

Estudos realizados no Rio Grande do Sul (Zanela, 2004; Marques, 2004) demonstraram que a ocorrência de LINA é maior nos produtores com menor produção de leite.

Gabbi (2013) utilizou dados levantados no Rio Grande do Sul durante três anos, entre 2002 e 2005, de sistemas de produção leiteira com variados graus de especialização. Os resultados demonstraram a relação entre tamanhos maiores de propriedade, número alto de vacas em lactação e elevada produção mensal de leite (características de sistemas mais tecnificados) com baixa frequência de LINA. Em outro estudo, no extremo oeste de Santa Catarina, o mesmo autor relatou que a adoção de níveis tecnológicos mais elevados resulta em maior estabilidade do leite no teste do álcool.

Segundo Ribeiro et al. (2014), com relação à importância social, o leite instável é motivo de atritos constantes entre indústrias e produtores, levando à fragilidade da cadeia produtiva do leite. Os autores consideram que, por haver maior incidência nas unidades de menor produção, em que o produtor tem maior dependência da atividade leiteira, o LINA atinge diretamente as camadas sociais mais necessitadas.

## Causas do LINA

Vários fatores vêm sendo estudados para identificar aqueles que predisõem à ocorrência do LINA. A seguir serão apresentados alguns desses fatores e as pesquisas realizadas.

### Fatores nutricionais

A relação entre nutrição e a ocorrência do LINA foi um dos fatores amplamente avaliados, sendo os estudos realizados sob duas abordagens: induções experimentais e tratamento do LINA.

As induções experimentais consistiam em experimentos nos quais utilizavam-se animais que apresentavam leite normal, e por meio de restrições alimentares buscava-se induzir casos de leite instável.

Vários estudos foram realizados. Utilizando níveis de restrição de 40%, Zanela et al. (2006) e Barbosa et al. (2012) verificaram que o leite de vacas

submetidas a restrição alimentar apresentaram mais instabilidade ao teste do álcool. Nesses experimentos, os quadros de LINA se instalavam rapidamente, cerca de 2 dias após a mudança na dieta dos animais.

A baixa disponibilidade de matéria seca na pastagem ou a restrição do tempo de pastejo também são consideradas formas de restrição alimentar. A redução em 50% da oferta de pasto (Tifton 85) diminuiu a concentração mínima de álcool necessária para desestabilizar as amostras de 75,8 para 69 °GL (Fruscalso et al., 2013).

O uso de sal aniônico na dieta de vacas em lactação também resultou em precipitação do leite com menores concentrações de etanol (Marques et al., 2011). Segundo (Stumpf et al., 2013), a relação entre restrição alimentar e redução da estabilidade poderia estar relacionada ao aumento da permeabilidade das junções firmes entre as células epiteliais mamárias (onde o maior influxo de sódio e eventualmente cloretos, pela via paracelular, aumentaria a força iônica ou promoveria o desequilíbrio salino e, conseqüentemente, reduziria a carga negativa líquida entre as micelas de caseína e aumentaria as suas chances de coagulação).

Gabbi (2013) cita que as principais conseqüências da restrição alimentar sobre a produção de leite e os componentes lácteos são a redução do aporte de nutrientes para a glândula mamária e a alteração na função mamária. Os efeitos da restrição alimentar sobre a

estabilidade do leite são variáveis, sendo dependentes da condição nutricional prévia dos animais, da produtividade dos mesmos, da possibilidade de compensarem eventuais reduções no aporte da suplementação com aumento da atividade de pastejo, além da magnitude e duração da restrição alimentar.

Por outro lado, uma série de experimentos foi realizada buscando-se corrigir o problema do leite instável. Marques et al. (2010b), utilizando dietas ajustadas em energia e proteína, verificaram maior eficiência na melhoria da estabilidade do leite na prova do álcool, comparada ao uso de dietas ajustadas apenas em proteína. Abreu (2008) ajustou a dieta de animais alimentados à base de silagem de sorgo, capim-elefante e concentrado comercial, utilizando os mesmos nutrientes, mas de forma a atingir 100% das exigências segundo o NRC 2001, e verificou que o ajuste aumentou a estabilidade do leite.

Viero (2008) não encontrou diferenças na estabilidade do leite de animais alimentados com selênio. Stumpf et al. (2013) concluíram que o fornecimento de citrato ou de bicarbonato de sódio para vacas em lactação saudáveis não influenciou os atributos metabólicos, produtividade, peso, escore de condição corporal, nem a composição ou a estabilidade do leite. Machado (2010) utilizando dietas equilibradas com diferentes proporções de concentrado (35%, 45% e 55%) não encontrou variações no nível de instabilidade do leite ao teste do álcool.

O ajuste de dietas visando atendimento às exigências nutricionais dos animais auxilia na melhoria da estabilidade do leite ao teste do álcool; entretanto, a recuperação do quadro de estabilidade pode variar, demorando de uma a três semanas, dependendo do caso.

## Fatores não nutricionais

### Tempo de lactação

Barros et al. (1999) observaram maior incidência de amostras positivas ao teste do álcool no início da lactação. Essa reduzida estabilidade nos primeiros dias pós-parto pode ser consequência da baixa estabilidade do colostro. Segundo esses autores, o avançar da lactação promove aumento na estabilidade láctea, a qual volta a reduzir nos últimos dias do estágio lactacional. Marques et al. (2010a) avaliaram o efeito de duas dietas: baixo e alto nível de suplementação, fornecidas a vacas em estágio avançado de lactação, e não encontraram melhoria na estabilidade do leite ao teste do álcool. Tal efeito pode estar associado a alterações no equilíbrio salino do leite.

### Estresse térmico

Abreu et al. (2011) submeteram vacas da raça Holandês a elevadas temperaturas e sem acesso à sombra por um período de cinco dias e perceberam redução significativa na estabilidade do leite ao teste do álcool, a qual atingiu valores de 70,83 °GL. Os autores

sugerem a redução da estabilidade em decorrência de um quadro de acidose metabólica, como alegado por Marques et al. (2011), em resposta compensatória à alcalose respiratória desencadeada pelo aumento da taxa respiratória.

### Mastite

Não existe consenso entre os autores com relação à instabilidade do leite e à mastite.

Alguns autores afirmam não haver relação positiva entre a mastite e a instabilidade (Negri et al., 2001; Donatele et al., 2003; Zanela, 2004). Por outro lado (Marques, 2004; Oliveira et al., 2011) identificaram maior contagem de células somáticas no leite instável, quando comparada com o valor médio obtido para o leite estável.

Entretanto, os trabalhos citados dizem respeito a amostras de leite de conjunto, ou de animais individuais, o que pode comprometer os resultados das análises devido à mistura do leite de animais saudáveis com o leite de animais com mastite, ou de quartos saudáveis com quartos mastíticos.

Kolling (2012) avaliou a relação entre a contagem de células somáticas do leite oriundo de diferentes quartos mamários de vacas com mastite subclínica. Nesse estudo, as amostras foram coletadas dos quartos mamários de forma individual, sendo que não houve diferença significativa da instabilidade do leite

dos quartos mamários saudáveis e dos mastíticos.

### **Cálcio iônico**

Tsioulpas et al. (2007), Chavez et al. (2004) e Barros et al. (1999) compararam leite positivo ou negativo no teste do álcool a 76 °GL e encontraram valores médios de Ca iônico mais elevados em amostras positivas, indicando que a concentração de álcool necessária para induzir a coagulação das proteínas é inversamente proporcional ao teor de cálcio iônico do leite. Por outro lado, Barbosa et al. (2010), em trabalho envolvendo diferentes níveis de energia e proteína na dieta de vacas em lactação, não encontraram correlação entre o cálcio iônico e a estabilidade do leite ao teste do álcool.

## **Metodologias**

Além das variações ocorridas por fatores nutricionais e não nutricionais, existem peculiaridades referentes ao teste do álcool que interferem nos resultados e que devem ser levadas em consideração.

### **Concentração do álcool**

A IN62 estabelece que o leite deve ser estável ao álcool/alizarol na concentração mínima de 72% (BRASIL, 2011). As indústrias têm elevado a concentração de álcool (chegando até o nível 82%). O aumento da concentração do álcool na solução provoca um estreitamento da faixa de normalidade da acidez do leite, ou seja, pode

indicar alterações justamente por exercer mais drasticamente sua ação desidratante.

Desse modo, a proteína que resistiria a uma concentração de 68% de álcool poderia não suportar uma concentração de 72% ou 74% em um nível de acidez titulável de 18 °D ou um pouco menos.

Fischer et al. (2011) avaliou o percentual de amostras instáveis utilizando diferentes concentrações de álcool em diversos experimentos.

Quanto maior a concentração utilizada, maior o número de casos de leite instável.

O aumento da concentração de álcool tem sido justificado pelos laticínios como a busca por um leite com maior estabilidade térmica, visando à produção de derivados submetidos a processos mais elevados (UHT e leite em pó). Entretanto, a relação entre estabilidade ao álcool e estabilidade térmica é questionável.

### **Nível de instabilidade**

Tendo em vista as diferentes graduações utilizadas pelas indústrias e buscando-se adequar as metodologias da pesquisa, foi definido o nível de instabilidade do leite (Zanela; Machado, 2009). Para se estabelecer o nível de instabilidade ao álcool de uma amostra de leite, foram utilizadas diferentes concentrações de álcool (68%, 70%, 72%, 74%, 76%, 78% e 80%). O teste do álcool foi repetido nas amostras de leite em todas as concentrações citadas.

O nível de instabilidade foi definido como a menor concentração de álcool

necessária para se obter resultado positivo (precipitação). Esse teste baseia-se no fato de que quanto maior a concentração de álcool utilizada na mistura, mais rígido se torna o teste e mais estável será o leite. Por exemplo: se uma amostra apresenta resultado positivo ao álcool 72%, mas resultado negativo ao álcool 70%, o nível de instabilidade é definido como 72 (Figura 5).

### Temperatura do teste



**Figura 5.** Teste do álcool em diferentes concentrações para avaliação do nível de instabilidade do leite.

A influência da temperatura do leite em relação à ação do álcool sobre as proteínas e a ocorrência de precipitação ainda é controversa. Estudo realizado por Costa et al. (2004), analisando 55 amostras de leite, apresentou diferença significativa entre temperaturas mais elevadas da matéria-prima e maior concentração de álcool para a coagulação. Em contrapartida, trabalho analisando 130 amostras de leite não encontrou diferença no LINA (Macha-

do, 2010).

Na prática, recomenda-se que o teste seja realizado no leite refrigerado, e não logo após a ordenha.

### pH do álcool

O pH da solução alcoólica utilizada no teste do álcool pode trazer resultados falsos positivos, se esse parâmetro não for corrigido para próximo da neutralidade. Vizzotto et al. (2012) avaliaram soluções alcoólicas com concentração de etanol variando de 68 até 92 °GL sem pH ajustado e soluções alcoólicas com pH ajustado (próximo da neutralidade: 6,9 a 7,1) nas mesmas concentrações. Os autores observaram que os extremos (tanto de pH baixo como alto) aumentaram a frequência de amostras positivas em relação à solução ajustada.

### Citrato

Os efeitos do citrato no leite são de caráter estabilizante. Machado (2010) promoveu aumento da concentração de álcool necessária para desestabilizar o leite por meio da adição de 0,02% de citrato de sódio no leite, reduzindo o LINA.

## Estabilidade térmica

O termo estabilidade térmica refere-se à resistência relativa do leite em coagular quando é aquecido a altas temperaturas (Singh; Creamer, 1992).

A correlação entre o teste do álcool e a estabilidade térmica é bastante questionada por alguns autores, chegando

sempre a correlações baixas, gerando insegurança quanto a essa predição (Molina et al., 2001; Negri, 2002; Chavez et al., 2004).

Segundo Lin (2003), a estabilidade ao etanol na concentração de 75% é considerada o limiar da estabilidade do leite durante o tratamento UHT. Molina et al. (2001) realizaram estudo para determinar a correlação entre os parâmetros do teste do álcool e a estabilidade térmica do leite, utilizando concentrações de etanol de 70%, 75%, 80% e 85%. Na concentração de 75% de etanol foram obtidos valores de estabilidade térmica de 60 a 70 segundos a 135 °C. Esse tempo foi considerado suficiente para elaboração do leite UHT (135 °C a 140 °C por 2 a 4 segundos). Dessa forma, segundo os autores, não existe justificativa para utilizar concentrações acima de 75% de etanol. O aumento da concentração ao etanol não apresentou correlação significativa com a estabilidade térmica.

## Tratamento ou prevenção

Os casos de LINA podem aparecer rapidamente no rebanho. Situações de imprevistos, como falta de ração, mudanças bruscas de dietas, calor excessivo, podem causar o aparecimento de LINA em um a dois dias, levando à condenação do leite. Por outro lado, após o equilíbrio da dieta e melhoria das condições dos animais, muitas

vezes leva-se de uma a duas semanas para que o leite volte a qualidade normal. Por isso, é melhor prevenir do que remediar!

A prevenção do LINA deve levar em conta o planejamento nutricional do rebanho. As vacas leiteiras necessitam de uma dieta equilibrada em quantidade e qualidade para atender as necessidades nutricionais e produzir leite.

O produtor deve se estruturar com pastagens, forragens conservadas (silagem, feno), suplementação (grãos, ração) e minerais para fornecer às vacas em lactação. Deve-se ter especial atenção ao uso de volumoso de qualidade. O equilíbrio da dieta depende de diversos fatores (produção de leite, teor de gordura, estágio de lactação das vacas, qualidade do alimento), por isso, não existe uma fórmula única nem solução mágica. O produtor deve solicitar auxílio de um técnico para formular a dieta adequada para os seus animais.

Outro fator a ser observado é que, em um mesmo rebanho, o produtor tem animais mais produtivos e outros menos (pela genética, estágio de lactação). Por isso, o uso do controle leiteiro (saber qual a produção de cada vaca) e a separação de lotes com alimentação diferenciada é importante para suprir as necessidades dos animais.

Outro problema é a lactação prolongada (acima de 305 dias). Normalmente, a secagem das vacas é realizada 60 dias antes do próximo parto. Em rebanhos com intervalo entre partos acima de 12-13 meses, os animais ficam

muito tempo em lactação. Vacas com lactação prolongada podem apresentar LINA de forma mais frequente. Nesse caso, o ajuste da dieta não resolve o problema. O ideal é secar os animais aos 305 dias de lactação. Entretanto, se o produtor não quiser descartar esse leite, outra opção é separar para utilizar na alimentação das terneiras.

Por fim, o estresse calórico pode resultar em LINA. Vacas que não tem acesso à sombra durante o dia nas estações quentes podem apresentar leite instável rapidamente.

Garantir conforto térmico, sombra e água de qualidade para os animais em lactação é fundamental para garantir um leite de boa qualidade.

O LINA é um problema grave, pois leva à condenação do leite na propriedade, afetando diretamente a renda do produtor rural. O planejamento do sistema de produção, o entendimento dos fatores que influenciam na produção e qualidade do leite e a parceria técnico-produtor são fundamentais para a sustentabilidade da atividade e a garantia de um leite de boa qualidade!

## Referências

ABREU, A. S. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey**. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade

Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

ABREU, A. S.; FISCHER, V.; KOLLING, G. J.; STUMPF, M. T.; RAVAZI, E. O.; MASIERO, A.; MENDES, D. R.; SORATTO, J. A. B.; BORBA JÚNIOR, I.; BONOTTO, R.; ROSSETTO, G. K.; ROSSETTO, T. K. Estresse calórico induzido por privação de acesso à sombra em vacas holandesas reduz a produção leiteira e a estabilidade térmica do leite. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE LECHE INESTABLE, 2., 2011, Colonia del Sacramento. **Anais...** Colonia del Sacramento, 2011.

ALDERSON, E. **Small scale milk collection and processing in developing countries**. E-mail conference. Rome: FAO, 2000. Disponível em: <[www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/ecs/proceedings](http://www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/ecs/proceedings)>. Acesso em: 03 fev. 2004.

ANGELO, I. D. V.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R. Efeito da homogeneização no Leite Instável Não Ácido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 7., 2017, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 2017.

BARBOSA, R. S.; RIBEIRO, M. E. R.; SCHAFFHÄUSER JÚNIOR, J.; FISCHER, V.; STUMPF JR., W.; GOMES, J. F.; BONO, G.; BARROS, L. E. Efeito do cálcio iônico nas características físicas do LINA. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 4., 2010, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2010.

BARBOSA, R. S.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; ZANELA, M. B.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; SCHAFFHÄUSER JÚNIOR, J.; BARROS, L. E.; EGITO, A. S. Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 4, p. 621-628, abr. 2012.

BARCHIESI-FERRARI, C. G.; WILLIAMS-SALINAS, P. A.; SALVO-GARRIDO, S. I. Inestabilidad de la leche asociada a componentes lácteos y estacionalidad en vacas a pastoreo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 12, p. 1785-1791, dez. 2007.

BARROS, L.; DENIS, N.; GONZÁLEZ, O.; GALAIN, C. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, Florida, v. 9, p. 315-318, 1999.

BLASQUES, F. C.; SILVA, F. A.; RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; GARCIA, D. T.; TAMANINI, R.; BELOTI, V. Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em três municípios da região norte do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2011.

BOTARO, B. G.; LIMA, Y. V. R.; CORTINHAS, C. S.; SILVA, L. F. P.; RENNÓ, F. P.; SANTOS, M. V. Effect of the kappa-casein gene polymorphism, breed and seasonality on physicochemical characteristics, composition and stability of bovine milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 2447-2454, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru e refrigerado. **Diário Oficial** [da República Federativa do Brasil], Brasília, setembro de 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Altera a Instrução Normativa MAPA nº 51, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial** [da República Federativa do Brasil], Brasília, dezembro de 2011.

CHAVEZ, M.; NEGRI, L. M.; TAVERNA, M. A.; CUATRIN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, n. 71, p. 201-206, 2004.

COSTA, F. F.; BRITO, M. A. V. P.; SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F. Influência da temperatura no teste de estabilidade do leite frente ao etanol. In: DÜRR, J.

W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. (Org.). **O Compromisso com a Qualidade do Leite no Brasil**. Passo Fundo, 2004. p. 296-300.

DONATELE, D. M.; VIEIRA, L. F. P.; FOLLY, M. M. Relação do teste de Alizarol a 72% (v/v) em leite “in natura” de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. **Revista Higiene Alimentar**, v. 7, n. 110, 2003.

FARIA, P. F.; RANGEL, A. H. N.; URBANO, S. A.; BORBA, L. H. F.; GALVÃO JÚNIOR, J. G. B.; SILVA, E. R. Unstable milk occurrence in the semiarid region and its relation with the physicochemical characteristics of milk. **Livestock Research for Rural Development**, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2017.

FISCHER, V.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; MARQUES, L. T.; ABREU, A. S.; MACHADO, S. C.; FRUSCALSO, V.; BARBOSA, R. S.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; VIEIRO, V. Leite instável não ácido (LINA): prevenção na propriedade leiteira e impactos nos laticínios. In: SIMLEITE, 3., 2011, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal Viçosa, 2011. p. 45-65.

FRUSCALSO, V.; STUMPF, M. T.; MCMANUS, C. M.; FISCHER, V. Feeding restriction impairs milk yield and physicochemical properties rendering it less suitable for sale. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 237-241, Jul./Aug. 2013.

**GABBI, A. M. Características do leite bovino produzido em sistemas de alimentação e de produção com diferentes aportes tecnológicos**. 2013. 139 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

KOLLING, G. J. **Influência da mastite na qualidade do leite e leite instável não ácido em diferentes quartos mamários**. 2012. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

**LIN, M-J. Role of ionic calcium on milk stability**. Thesis. University of Reading. School of Food Biosciences, 2003.

LOPES, L. C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo**. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, São Paulo.

MACHADO, S. C. **Fatores que afetam a estabilidade do leite bovino**. 2010. 191 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Programa de Pós- Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MARQUES, L. T. **Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito**

**sobre a composição química e aspectos físicos.** 2004. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MARQUES, L. T.; FISCHER, V.; ZANELLA, M. B.; STUMPF JÚNIOR, W.; RIBEIRO, M. E. R.; VIDAL, L. E. B.; RODRIGUES, C. M.; PETERS, M. D. Suplementação de vacas holandesa em estádio avançado de lactação. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1392-1398, 2010a.

MARQUES, L. T.; FISCHER, V.; ZANELLA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W., MANZKE, N. E. 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** (Online), v. 39, p. 2724 - 2730, 2010b.

MARQUES, L. T.; FISCHER, V.; ZANELLA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; RODRIGUES, C. M. Produção leiteira, composição do leite e perfil bioquímico sanguíneo de vacas lactantes sob suplementação com sal aniônico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 5, p. 1088-1094, 2011.

MARX, I. G.; LAZZAROTTO, T. C.; DRUNKLER, D. A.; COLLA, E. Ocorrência do leite instável não ácido na região oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2011.

MOLINA, L. H.; GONZALEZ, R.; BRITO, C.; CARRILLO, B.; PINTO, M. Correlation between heat stability and alcohol test of milks at a milk collection center. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 33, p. 233-240, 2001.

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.** Montevideo: INTA EEA Rafaela: INTI CITIL Rafaela, 2001.

NEGRI, L. M. **Estúdio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre La estabilidad térmica.** 2002. 169 f. Tesis (Magister em Ciencia y Tecnologia de los Alimentos) - Facultad de Ingenieria Quimica, Rafaela, Argentina.

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, p. 508-515, 2011.

OLIVEIRA, L. R.; OLIVEIRA, N. J. F.; GONÇALVES, A. F.; SANTOS, C. A.; MOURTHE, M. H. F.; MATIAS, A. D. Parâmetros físicos do leite e ocorrência de leite instável não ácido em diferentes municípios do norte de Minas Gerais. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 1, supl. 2, p. 150-155, 2015.

PACHECO, M. S. **Leite cru refrigerado do Agreste Pernambucano**: caracterização da qualidade e do sistema de produção. 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PECORARI, M.; FOSSA E.; AVANZINI, G.; MARIAN, P. Milk with abnormal coagulation: acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. **Scienza e Tecnica Lattiero Casiare**, v. XXXV, n. 4, p. 263-278, 1984.

PONCE, P. Caracterização da síndrome do leite anormal: um enfoque das suas possíveis causas e correção. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambu. **Anais...** Caxambu: Instituto Fernando Costa, 1999. p. 61-76.

PONCE CEBALLO, P.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2001. p. 58-68.

RIBEIRO, M. E. R.; MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V. **Nova metodologia para verificação do Leite Instável Não**

**Ácido (LINA)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 4 p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado Técnico, 203).

RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; ZANELA, M. B.; BITENCOURT, D.; MARQUES, L. T.; KOLLING, G. J. Leite Instável no Sul do Rio Grande do Sul: importância econômica e social. In: **Leche inestable. Desafios en el Cono Sur**, 1. Montevideo: Universidad de la República, 2014, v. 1, p. 91-98.

ROMA JÚNIOR, L. C. **Características quantitativas e qualitativas da proteína do leite produzido na região Sudeste**. 2008. 150 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SINGH, H.; CREAMER, L. Heat stability of milk. In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. (Ed.). **Advanced Dairy Chemistry - 1: Proteins**. Amsterdam: Elsevier Applied Science, 1992.

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

STUMPF, M. T.; FISCHER, V.; MCMAHUS, C. M.; KOLLING, G. J.; ZANELA, M. B.; SANTOS, C. S.; ABREU, A. S.; MONTAGNER, P. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces

ethanol stability of milk. **Animal**, v. 7, n. 7, p. 1137-1142, 2013.

SUÑÉ, R. W. **A incidência de amostas de leite com reação positiva ao teste do álcool em diferentes concentrações na região da campanha do Rio Grande do Sul e a relação com a acidez titulável no acidímetro de Dornic**. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2010. 15 p. (Embrapa Pecuária Sul. Documentos, 113).

THALER NETO, A.; FELIPUS, N. C.; WERNCKE, D.; ABREU, A. S.; FISCHER, V. Perfil das propriedades e ocorrência de leite instável não ácido na região do vale do braço do norte, sul do estado de Santa Catarina. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UDESC, 22., 2012, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Universidade do Estado de Santa Catarina, 2012. Disponível em: <<http://www1.udesc.br/?id=1194>>. Acesso em: 07 jun. 2017.

TSIOULPAS, A.; LEWIS, M. J.; GRANDISON, A. S. Effect of minerals on casein micelle stability of cows' milk. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 2, p. 167-173, 2007.

VIERO, V. **Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido**. 2008. 91 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Vete-

rinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

VIZZOTTO, E. F.; OLIVEIRA, E. R.; FISCHER, V.; ABREU, A. S.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; WANDERER, M. pH da solução alcoólica usada no teste do álcool e sua influência na estabilidade do leite bovino. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE LEITE, 21., 2012, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Gado de Leite, 2012.

WERNCKE, D. **Perfil das propriedades e ocorrência de leite instável não ácido na região do Vale do Braço do Norte, sul do Estado de Santa Catarina**. 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

YOSHIDA, S. Studies in the Utrecht abnormality of milk in the Miyuki Dairy Farm. **Journal Japanese Applied Biology Science Hiroshima University**, v. 19, p. 39-54, 1980.

ZANELA, M. B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do sul, ocorrência indução experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA)**. 2004. 143 f. Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção Animal), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Pelotas.

ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; MARIQUES, L. T.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELA, C. Leite Instável Não Ácido

e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 835-840, 2006.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; GOMES, J. F.; STUMPF JR, W. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 1009-1013, 2009.

ZANELA, M. B.; MACHADO, S. C. Incidência do Leite Instável Não Ácido (LINA) no RS, Brasil In: RIBEIRO, M. E. R.; ZANELA, M. B.; SCHAFFHAUSER JR, J. (Ed.). **Leite instável: avanços científicos e caminhos para inovações na América Latina**. 1 ed. Pelotas,

RS : Embrapa Clima Temperado, 2009, v.1, p. 111-124.

ZANELA, M. B.; KOLLING, G. J.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V. Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL SOBRE LECHE INESTABLE, 2., 2011, Montevideo. **Anais...** Montevideo - UY: Universidad de la Republica., p. 2-5. 2011. 1 CD ROM

ZANELA, M. B., KOLLING, G. J., RIBEIRO, M. E. R., FISCHER, V. Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool In: **Leche inestable**. Desafios en el Cono Sur. 1 ed. Montevideo - Uruguay: Universidad de la República, 2014, v. 1, p. 9-16.

**Embrapa Clima Temperado**

BR 392 km 78 - Caixa Postal 403  
CEP 96010-971, Pelotas, RS  
Fone: (53) 3275-8100  
www.embrapa.br/clima-temperado  
www.embrapa.br/fale-conosco

**1ª edição**

Obra digitalizada (2018)

Comitê Local de Publicações  
da Embrapa Clima Temperado

Presidente

*Ana Cristina Richter Krolow*

Vice-Presidente

*Ênio Egon Sosinski*

Secretária-Executiva

*Bárbara Chevallier Cosenza*

Membros

*Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,  
Marilaine Schaun Pelufê, Sônia Desimon*

Revisão de texto

*Bárbara C. Cosenza*

Normalização bibliográfica

*Marilaine Schaun Pelufê*

Editoração eletrônica

*Fernando Jackson*

Foto da capa

*Maira Balbinoti Zanela*

