

**Ocorrência de Leite Instável Não Ácido (LINA) em propriedades comerciais da região
Extremo Oeste de Santa Catarina**

**Occurrence of Unstable non-acid milk (UNAM) on commercial farms in the extreme
west of Santa Catarina**

**Aparición de leche inestable no ácida (LINA) en granjas comerciales en el extremo oeste
de Santa Catarina**

Recebido: 18/05/2020 | Revisado:22/05/2020 | Aceito: 25/05/2020 | Publicado: 06/06/2020

Guilherme Augusto Manske

ORCID: <https://orcid.org/00000000-0002-9492-8816>

Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil

E-mail: manske.vet@gmail.com

Beatriz Danieli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2484-5836>

Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil

E-mail: beatrisdanieli@hotmail.com

Gian Ricardo Zuffo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2895-2110>

Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil

E-mail: gian_zuffo@yahoo.com.br

Elisandra Rigo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5405-5168>

Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil

E-mail: elisandra.rigo@udesc.br

Fábio José Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1903-4898>

Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil

E-mail: gomes.fj@outlook.com

Aline Zampar

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2269-7932>

Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil

E-mail: aline.zampar@udesc.br

Ana Luiza Bachmann Schogor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8952-8869>

Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil

E-mail: ana.schogor@udesc.br

Resumo

Objetivou-se diferenciar propriedades leiteiras e correlacionar suas características com a ocorrência de Leite Instável Não Ácido (LINA) no Extremo Oeste catarinense, além de averiguar a menor graduação no teste do álcool para seleção do leite em um laticínio comercial. As avaliações foram feitas em 45 propriedades que comercializavam leite no laticínio. As características de manejo e produção foram identificadas entre agosto e dezembro de 2016. Amostras de leite foram coletadas quinzenalmente do tanque de resfriamento entre agosto de 2016 e julho de 2017. Elas foram analisadas para a estabilidade ao teste do álcool nas graduações de 72 a 80% em intervalos de 2%, além do teste de fervura, acidez titulável e pH. O teste do Qui-quadrado foi usado para avaliar a diferença entre o LINA nas graduações testadas e a análise de regressão para estimar o efeito das variáveis quantitativas sobre o LINA acumulado. Para verificar o efeito do mês do ano sobre o LINA foi realizada a análise de regressão. A produção de leite em 91% das propriedades era em sistema a pasto com suplementação e o restante em semiconfinamento. A área das propriedades era $23,6 \pm 16$ ha para manter $23,6 \pm 9,3$ vacas em lactação produzindo em média $16,6 \pm 4,9$ litros/vaca. A incidência de LINA aumentou concomitantemente ao aumento da graduação alcoólica utilizada no teste e, no mês de fevereiro foi encontrada a menor graduação para identificação de LINA. O estudo concluiu que a graduação alcoólica de 76% é a melhor alternativa para selecionar o leite comercializado.

Palavras-chave: Estabilidade do leite; Análises físico-químicas; Qualidade do leite.

Abstract

The objective was to differentiate dairy farms and correlate their characteristics with the occurrence of Unstable non-acid milk (UNAM) in the far west of Santa Catarina. In addition to ascertaining the lowest

graduation in the alcohol test for milk selection in a commercial dairy. Assessments were made at 45 farms that sold milk in the commercial dairy. Management and production characteristics were identified between August and December of 2016. Milk samples were collected biweekly from the cooling tank between August 2016 and July 2017. They were analyzed for stability to alcohol testing in gradations from 72 to 80 % at 2% intervals, in addition to the boil test, titratable acidity, and pH. The Pearson's Chi-square test was used to evaluate the difference between the UNAM in the graduations tested and the regression analysis to estimate the effect of quantitative variables on the accumulated UNAM. Regression analysis as performed to verify the effect of the month of the year on the UNAM. The milk production in 91% of the farms was in the pasture system with supplementation and the rest in semiconfinement. The area of the farm was 23.6 ± 16 ha to keep 23.6 ± 9.3 lactating cows producing on average of 16.6 ± 4.9 liters/cow. The incidence of UNAM increased concomitantly with the increase in the alcoholic grade used in the test and, in February, the lowest grade for identification of UNAM was found. The study concluded that the accumulated UNAM correlated negatively with the area to produce food and animal productivity. The 76% alcohol content is the best alternative to select commercialized milk.

Keywords: Milk stability; Physicochemical analysis; Milk quality.

Resumen

El objetivo era diferenciar las granjas lecheras y correlacionar sus características con la presencia de Leche Inestable No Ácida (LINA) en el extremo oeste de Santa Catarina. Además de determinar la graduación más baja en la prueba de alcohol para la selección de leche en una lechería comercial. Se realizaron evaluaciones en 45 granjas que vendían leche en la lechería. Las características de manejo y producción se identificaron entre agosto y diciembre de 2016. Las muestras de leche se recolectaron cada dos semanas del tanque de enfriamiento entre agosto de 2016 y julio de 2017. Se analizaron las pruebas de estabilidad al alcohol en los grados 72 a 80 % en intervalos de 2%, además de la prueba de ebullición, acidez titulable y pH. La prueba de chi-cuadrado se utilizó para evaluar la diferencia entre el LINA en las graduaciones evaluadas y el análisis de regresión para estimar el efecto de las variables cuantitativas en el LINA acumulado. Para verificar el efecto del mes del año en la LINA, se realizó un análisis de regresión. La producción de leche en el 91% de las granjas estaba en el sistema de pastoreo con suplementación y el resto en semi-confinamiento. El área de la granja fue de $23,6 \pm 16$ ha para mantener $23,6 \pm 9,3$ vacas lactantes que produjeron un promedio de $16,6 \pm 4,9$ litros / vaca. La incidencia de LINA aumentó concomitantemente con el aumento del grado alcohólico utilizado en la prueba y, en febrero, se encontró el grado más bajo para la identificación de LINA. El estudio concluyó que la LINA acumulada se correlacionó negativamente con el área para

producir alimentos y productividad animal. El contenido de alcohol del 76% es la mejor alternativa para seleccionar leche comercializada.

Palabras clave: Estabilidad de la leche; Análisis físico-químico; Calidad de la leche.

1. Introdução

O agronegócio brasileiro é altamente relevante no contexto econômico, social e ambiental do país. Neste contexto, a bovinocultura de leite tem ampla participação no agronegócio brasileiro, mas as propriedades não obedecem a um padrão tecnológico. É muito comum encontrar desde pequenas propriedades baseadas na mão de obra familiar e até mesmo pequenas cooperativas, até grandes propriedades, com instalações mecanizadas e alto nível tecnológico (Voges et al., 2018). Geralmente estas características distinguem para a qualidade composicional e físico-química do leite entre estes grupos de propriedades leiteiras e auxiliam na tomada de decisões em relação aos investimentos tecnológicos (Voges et al., 2018; Werncke et al., 2016). Além disso, estas informações contribuem para o direcionamento da assistência técnica especializada, a fim de alcançar o aconselhamento específico para a melhoria da produção, obtenção e da qualidade do leite produzido a ser industrializado nos laticínios. A busca por estas melhorias, dentre outras, é de fundamental importância para que o Brasil possa se tornar mais competitivo no mercado internacional (Werncke et al., 2016).

A qualidade do leite geralmente é muito vulnerável às características do sistema de produção. Quando consideramos as propriedades físico-químicas do leite, alguns autores encontraram que o leite é mais instável em algumas épocas do ano (Marques et al., 2007; Fisher et al., 2012; Battaglini et al., 2013). Esta variação pode ser atribuída às alterações na dieta oferecida aos animais, principalmente quando a base nutricional são as pastagens e possuem qualidade inconstante (Battaglini et al., 2013; Voges et al., 2018). Outra característica que pode limitar o consumo dos alimentos são as variações climáticas, em que o incremento calórico dificulta o consumo total da dieta (Battaglini, et al., 2013). A estabilidade do leite poderia não ser um problema comum se fosse utilizada a graduação alcoólica mínima recomendada pela legislação brasileira (Brasil, 2018) para selecionar as amostras de leite coletadas nas propriedades. No entanto, de acordo com os critérios da indústria, os produtores ficam reféns da graduação alcoólica escolhida pelo laticínio. Esta situação causa prejuízos valorosos, haja vista que as amostras rejeitadas ou subvalorizadas pela indústria, apresentam-se com níveis de acidez normais, estando aptas para serem processadas em produtos específicos (Marques et al., 2007). Isto eleva a preocupação em se conhecer a real incidência de LINA na região e avaliar

as possíveis características das propriedades que influenciam a sua ocorrência.

Objetivou-se diferenciar propriedades leiteiras e correlacionar suas características com a ocorrência de leite instável não ácido (LINA) no Extremo Oeste catarinense, além de averiguar a melhor graduação alcoólica utilizada no teste para ser indicada na seleção de amostras de leite recebidas por um laticínio comercial da região.

2. Metodologia

2.1 Caracterização das propriedades leiteiras

O estudo foi realizado junto a um laticínio comercial do Extremo Oeste de Santa Catarina. Para avaliação das características das propriedades da região, incidência de LINA e monitoramento da estabilidade da caseína frente ao teste do álcool, foi realizada uma amostragem probabilística sistemática como definido por Freitas et al. (2000), em que, foram selecionadas 45 propriedades leiteiras integradas ao laticínio comercial. As informações referentes às características das propriedades corresponderam aos meses de agosto a dezembro de 2016 e foram cedidas pelo laticínio parceiro da pesquisa, sem identificação pessoal.

2.2 Avaliação dos parâmetros físico-químicos do leite cru

No período entre agosto de 2016 e julho de 2017, foram coletados 300 ml de leite cru, em embalagem estéril, diretamente do tanque de resfriamento contendo leite de duas ou quatro ordenhas, relativas a intervalos de 24 ou 48 horas entre um carregamento do leite e outro. A embalagem foi mantida em caixa isotérmica com gelo reciclável em temperatura inferior a 7 °C, para simular as condições de armazenagem do tanque de resfriamento até o momento da análise laboratorial. Este volume de leite coletado foi suficiente para realizar todas análises estipuladas na pesquisa. As amostras foram encaminhadas ao laboratório próprio do laticínio comercial e foram analisadas aproximadamente entre duas até cinco horas após a coleta.

Foram mensuradas a estabilidade ao teste do álcool, de fervura, acidez titulável e pH. O teste do álcool foi realizado conforme Tronco (2010), nas concentrações de 72 a 80% em intervalos de 2%. O teste de fervura foi realizado por meio do aquecimento de 30 ml de leite em tubo de ensaio com agitação constante e observada a formação de coágulo (Brasil, 2006). O teste de acidez titulável por Dornic foi executado conforme a Instrução Normativa nº.

68/2006 (Brasil, 2006) e a determinação de pH por leitura em potenciômetro de bancada (AKSO®).

A estabilidade do leite frente ao álcool foi verificada quinzenalmente para cada propriedade leiteira durante o período compreendido entre as coletas de amostras, com o objetivo de determinar a mínima concentração de álcool que causasse a coagulação do leite. Para o teste foram usadas as mesmas concentrações citadas anteriormente. A instabilidade do leite ao teste do álcool foi estabelecida quando a mínima concentração de álcool induziu a formação de coágulos em amostras com acidez normal, entre 14 e 18 °D, e negativas ao teste de fervura. Quando considerado o acompanhamento em cada mês da pesquisa, cinco produtores tiveram a conexão interrompida com a pesquisa em algum momento. Portanto, totalizou-se 1.035 amostras analisadas durante o acompanhamento quinzenal das 45 propriedades.

2.3 Análise estatística

Os dados quantitativos e qualitativos foram descritos por meio de estatística descritiva. Além disso, foi realizado o teste de qui-quadrado de Pearson, para avaliar a diferença entre a proporção de testes positivos e negativos nas diferentes concentrações alcoólicas. Foi realizada análise de regressão, para estimar o efeito das variáveis quantitativas sobre o LINA acumulado. Para isso, foi considerado como a soma dos valores positivos nas diferentes graduações avaliadas, sendo negativo igual à zero, e positivo igual a um. Para definição do modelo, inicialmente foram consideradas as variáveis tamanho total da fazenda, o tamanho destinado para alimentação, a raça dos animais, o volume produzido por vaca/dia e o número de animais em lactação, em seguida foram retiradas as variáveis colineares (verificada pelo fator de inflação da variação, VIF), e a regressão foi estimada pelo método iterativo *Stepwise*, em que o melhor modelo foi escolhido pelo critério de Akaike.

Para verificar o efeito do mês do ano sobre a concentração alcoólica necessária para causar a coagulação do leite foi realizada análise de regressão. Para a decomposição da regressão na análise de variância (teste F a 5%), verificada a normalidade dos erros e utilizado o teste de Wald (5%) para comparação entre os meses. Nos contrastes em que não foi rejeitada a hipótese nula, para confirmar ausência de diferença significativa, foi realizado o teste da razão da verossimilhança. Todas as análises foram realizadas com auxílio do Software R.

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização das propriedades

A caracterização das propriedades envolvendo a produção de leite, tamanho da fazenda, área destinada à alimentação, vacas em lactação e o volume médio de leite diário produzido por vaca estão descritos na Tabela 1. Pode-se observar que todas as propriedades que utilizavam mão de obra própria possuíam pequenas extensões de terra. Em contrapartida, propriedades com maiores extensões de terra e sistema de produção tecnificado requeriam mão de obra própria familiar e contratada. Neste aspecto, 68,9% das propriedades apresentaram área de até 25 ha e o aproveitamento desta extensão para a produção de alimentos era de aproximadamente 50%. Desta área, em média, 5,1 ha eram destinados para pastagens perenes de estação fria ou de estação quente, 6,0 ha eram destinados à produção de silagem de milho no verão e aproximadamente 3,7 ha desta mesma área era utilizada para plantio de pastagens de estação fria. A produção de silagem era adotada por 44 produtores (97,8%). Valores e características semelhantes aos resultados desta pesquisa foram encontrados no Estado de Santa Catarina por Costa et al. (2013) e Werncke et al. (2016).

Tabela 1 - Descritiva dos dados das propriedades do Extremo Oeste de Santa Catarina, avaliadas entre agosto e dezembro de 2016 (n = 45).

Variável	Média ± DP ¹	Mínimo	Máximo	Mediana
Área total (ha)	23,6 ± 16,0	7,0	105,0	20,0
Área destinada para alimentação (ha)	12,0 ± 5,1	5,9	30,0	10,0
Produção diária (litros/dia)	412,2 ± 241,3	65,0	1150,0	375,0
Total de animais ² (cabeça)	41,7 ± 2,3	18,0	78,0	39,0
Vacas em lactação (cabeça)	23,6 ± 9,3	8,0	44,0	24,0
% de vacas em lactação	88,0 ± 8,2	69,2	100,0	88,9
Produção por animal (litros/vaca/dia)	16,6 ± 4,9	6,9	31,1	16,7

¹Desvio Padrão. ²Destinados para bovinocultura de leite (exceto bezerros machos).

O sistema de produção a pasto com suplementação foi identificado em 41 (91,1%) propriedades analisadas e 4 (8,9%), adotavam o sistema semi-confinado. Ambos os sistemas utilizavam o pastejo rotacionado com suplementação de concentrado comercial e forragem

conservada (silagem de milho). No semi-confinamento os animais permaneciam parte do tempo em uma instalação intercalado com o período de pastejo. Todavia, a produtividade das pastagens em ambos os sistemas de produção é dependente do período do ano (Battaglini et al., 2013). A instabilidade do leite aumenta ao passo que a disponibilidade da pastagem diminui concomitantemente à sua qualidade (Battaglini et al., 2013; Voges et al., 2018). Diante da sazonalidade relacionada às pastagens, a suplementação de concentrado comercial ou volumoso, com a intenção de manter o balanço de energia e proteína da dieta melhora a estabilidade do leite na prova do álcool e atenua o possível efeito da restrição alimentar (Marques et al., 2010; Costa et al., 2013). Mesmo diante da suplementação em todas as propriedades leiteiras, a dieta oferecida pode ter resultado em desbalanceamento nutricional, já que nenhuma recebia assistência técnica especializada e que portanto, não havia conhecimento sobre se as dietas atendiam as exigências nutricionais dos animais. Nesta pesquisa, as espécies forrageiras, bem como o seu consumo não foram características mensuradas. Além disso, o valor nutricional e a quantidade fornecida de cada suplemento concentrado ou volumoso não foi identificado.

Um total de 27 propriedades (60%) possuíam rebanhos com a raça Holandesa e Jersey de forma mista, enquanto, 10 (22,2%) utilizam apenas Holandesas e 8 (17,8%) utilizam apenas Jersey. Este perfil foi diferente das regiões do Vale do Braço do Norte, em que na maioria das propriedades predomina a raça Jersey (Werncke et al., 2016), assim como na região do Alto Vale do Itajaí, e, a região Meio-Oeste, em que predominaram a raça Holandesa (Winck & Thaler Neto, 2012).

Voges et al. (2018) identificou que propriedades pouco tecnificadas e com menor número de animais possuem mais registros de LINA, foi identificado a ocorrência de 0,09% em sistemas totalmente mecanizados, 0,00% com balde ao pé mecanizado e 0,37% na ordenha manual. Nesta pesquisa, o total de 30 (66,7%) propriedades contavam com salas de ordenha em espinha de peixe, mesmo que ainda houvesse 15 (33,3%) contendo sistema de balde ao pé. Por sua vez, o sistema de ordenha totalmente canalizado foi comum em 22 propriedades (48,9%), mas ainda existiam 10 (22,2%) sistemas semi-canalizados e 13 (28,9%) com transferência manual do leite. O investimento feito no sistema de ordenha em cada uma das propriedades dependia do aporte financeiro e do número de animais ordenhados de cada uma. Todavia, a tendência foi à utilização de estruturas e sistemas que facilitavam o trabalho, tendo em vista a mão de obra escassa no setor e a possível ampliação do rebanho.

Com relação às práticas de ordenha, observou-se a baixa adesão de alguns procedimentos importantes no controle da qualidade sanitária do leite no que tange os dados de

contagem padrão em placas (CPP) e contagem de células somáticas (CCS). Das propriedades, 23 (51,1%) realizavam o manejo de pré-dipping e 37 (82,2%) o pós-dipping. O descarte dos três primeiros jatos de leite era realizado em 38 (84,4%) propriedades, entretanto, apenas 16 (35,6%) aproveitava o momento para fazer o teste da caneca de fundo preto. Isso quer dizer que, aproximadamente 48,8% das propriedades realizavam o descarte dos primeiros jatos em locais indevidos, sendo no chão o principal local de descarte. Adicionalmente, o teste CMT (*California Mastitis Test*) foi mais comum para 33 (73,3%) propriedades em relação ao teste da caneca de fundo preto, apesar de seu maior custo financeiro e operacional.

A higienização dos equipamentos subsequente à ordenha também é fundamental durante o processo de ordenha. Todavia, o detergente alcalino é recomendado diariamente para retirada da gordura aderida no equipamento, enquanto o detergente ácido tem seu uso recomendado com menor frequência, mas não impossibilita o seu uso diário por se tratar da retirada dos minerais incrustados. O detergente alcalino era usado diariamente em todas as propriedades leiteiras. Mas, não havia padronização na utilização do detergente ácido, e apenas 62,22% dos produtores fazia o uso correto. Não menos importante, a higienização do tanque resfriador é fundamental para minimizar as chances de contaminação do leite com microrganismos e manter a sua qualidade entre a ordenha e a concessão à indústria beneficiadora (Santos & Fonseca, 2019). Neste sentido, em aproximadamente 26 (57,8%) propriedades era usado detergente específico para lavagem do resfriador, sendo que nas demais era utilizado detergente comum. Apenas em 24 (53,3%) propriedades era utilizada água quente na lavagem, o que facilita a retirada de resíduos do leite no tanque, uma vez que em 23 propriedades (51,1%), a lavagem do tanque era realizada apenas antes da ordenha seguinte. De acordo com Santos & Fonseca (2019) a higienização deve ser realizada logo após a coleta do leite, momento em que os resíduos são removidos com maior facilidade. Além disso, o menor tempo entre a coleta do leite e a higienização do tanque tem o intuito de evitar a multiplicação bacteriana e a possível formação de biofilme. Todavia, a higienização do tanque apenas antes da ordenha foi justificada pelo horário da coleta pelo transportador, comumente realizada durante a madrugada, o que dificulta ao produtor a sua realização imediatamente após a coleta, mesmo conhecendo os benefícios da prática. A padronização de procedimentos é pouco utilizada em pequenas propriedades rurais baseadas em mão de obra familiar. A utilização de água morna (40 °C) e de detergentes específicos para a higienização do tanque resfriador também são práticas recomendadas (Santos & Fonseca, 2019) e mesmo assim, grande porcentagem de produtores não as realiza, o que pode influenciar negativamente a qualidade do leite produzido pelos mesmos.

A utilização de graduação alcoólica acima do limiar mínimo de 72%, descrita na Instrução Normativa nº. 76/2018 (Brasil, 2018) para o teste do álcool realizado na indústria gera constante atrito com os fazendeiros, pois a legislação vigente não estabelece o limite máximo de graduação e as propriedades estão mais suscetíveis a ter o leite rejeitado, conforme afirmaram Molina et al. (2001). Esta rejeição leva ao descarte de matéria prima apta para industrialização pautada em legislação, gerando prejuízos aos fazendeiros. Estudos relacionando as diferentes concentrações e sua influência sobre produtos lácteos ainda são escassos na literatura, ainda não sendo possível apresentar uma posição com relação a este assunto. De acordo com Goulart et al. (2019) é possível a confecção de queijo minas frescal com leite LINA sem perdas significativas de rendimento.

Devido a isto, é possível indicar que a prova do álcool seja utilizada como critério de destinação da matéria prima dentro da indústria beneficiadora para produtos específicos, e não como critério para aceite ou rejeição na plataforma de recepção. Ainda são necessários estudos aprofundados sobre a influência da estabilidade da caseína frente à prova do álcool sobre diferentes produtos lácteos. De acordo com Marques et al. (2007) o teste do álcool tem a capacidade de estimar a estabilidade do leite quando submetido ao tratamento térmico. Bitencourt et al. (2000) afirmaram que o aquecimento de leite positivo para a graduação de 78% pode gerar deposição de proteína nas máquinas de UHT (*Ultra High Temperature*) acarretando em maior mão de obra na limpeza e higienização das tubulações.

O objetivo industrial é utilizar graduações alcoólicas maiores do limite mínimo de 72% determinado pela Instrução Normativa nº. 76/2018 (Brasil, 2018) com a intenção de selecionar leite de melhor qualidade. A maior incidência de LINA foi encontrada na concentração de 76%, pois foi esta que se diferenciou significativamente da concentração mínima sugerida pela legislação. Portanto, a incidência de LINA foi de 24,4% no levantamento realizado no plano amostral de 45 produtores com amostras coletadas no mês de setembro do ano de 2016. Em estudo similar, Zanela et al. (2009) encontraram 42,5% na região Noroeste do Rio Grande do Sul-RS e Marques et al. (2007) encontraram 53% em Pelotas e 31% em Panambi. Todas estas pesquisas foram executadas com a graduação alcoólica de 76%, o que demonstra que a diferença seria ainda maior se a graduação alcoólica fosse equivalente à desta pesquisa.

Adicionalmente a avaliação instantânea de uma única visita em cada fazenda leiteira, foi realizado o acompanhamento mensal da incidência de LINA durante um ano. Este monitoramento tinha o objetivo de averiguar se com o maior número de amostragens a graduação alcoólica mínima necessária para causar precipitação do leite se manteria. É imprescindível salientar que para esta verificação não foram realizados os testes de acidez

titulável, pH e de fervura, sendo atribuído os casos de instabilidade apenas à positividade no teste do álcool.

Os resultados do teste de proporções da prova do álcool, realizadas em um plano amostral maior, de 1035 amostras, também apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as graduações alcoólicas de 72x76, 72x78, 72x80, 74x76, 74x78, 74x80, 76x78, 76x80 e 78x80 (Tabela 2). Assim, houve diferença entre os resultados nos dois planos amostrais avaliados. Quando foi testado o plano amostral maior, encontrou-se uma diferença estatística do limiar mínimo indicado na legislação com a graduação alcoólica de 76%. Diante deste resultado, é possível determinar que se a indústria tem como objetivo realizar a triagem do leite com uma concentração maior que a mínima respaldada pela legislação (72%), a concentração ideal seria a de 76%, não sendo necessário aumentar ainda mais o gradiente, pois desta forma alcançaria uma seleção de matéria prima com maior estabilidade a prova do álcool quando comparada ao mínimo estabelecido em legislação. É importante destacar também que, em um plano amostral maior e com distribuição anual, os dados avaliados são mais confiáveis, e encontraram uma maior porcentagem de amostras positivas a prova do álcool na concentração de 78%.

Tabela 2 - Frequências dos resultados da prova do álcool das propriedades da região Extremo Oeste de Santa Catarina, realizadas em setembro de 2016 (n = 45) e entre agosto de 2016 a julho de 2017 (n = 1.035).

Graduações alcoólicas % (v/v)					
Resultado (n=45)	72	74	76	78	80
Positivo (%)	2,2 ^a	8,9 ^a	11,1 ^{ab}	24,4 ^b	95,6 ^c
Negativo (%)	97,8	91,1	88,9	75,6	4,4
Graduações alcoólicas % (v/v)					
Resultado (n=1035)	72	74	76	78	80
Positivo (%)	0,7 ^a	1,6 ^a	9,0 ^b	46,4 ^c	*100,0 ^d
Negativo (%)	99,3	98,4	91,0	53,6	0,0

Médias com letras diferentes na mesma linha em cada resultado diferem entre si pelo Teste de qui-quadrado de Pearson.

A Tabela 3 corresponde às graduações alcoólicas necessárias para precipitar as amostras de leite em cada um dos meses do ano. Para as análises, foi considerada a menor graduação do álcool necessária para causar a coagulação da amostra (positiva). Nesta pesquisa, o mês de fevereiro foi representado pela positividade ao teste com a menor graduação alcoólica

se comparado aos demais meses do ano. Entretanto, a graduação alcoólica não diferiu estatisticamente daquela encontrada nos meses de março e maio. Este resultado complementa a pesquisa de Zanela et al. (2009) que encontraram maiores percentuais de LINA nos meses de fevereiro e março na região Noroeste do Rio Grande do Sul utilizando a graduação de 76%. No trabalho de Zanela et al. (2009), os autores atribuíram a maior ocorrência de LINA nesta época devido à baixa disponibilidade alimentar.

Na região desta pesquisa, a área destinada à pecuária ficava vinculada ao uso para o plantio de cereais e de forrageiras destinadas à conservação, por exemplo, milho e sorgo para silagem. Além disso, as áreas ocupadas com gramíneas de estação quente estavam no final do seu ciclo que coincide com a sua menor qualidade, já a silagem estocada muitas vezes se encontrava exaurida. Portanto, a menor graduação alcoólica encontrada para causar a precipitação do leite nestes meses é justificada pela menor disponibilidade de pastagem e forragens de baixa qualidade para alimentação dos animais, conforme observado em outros trabalhos (Zanela et al., 2009; Marques et al., 2010; Battaglini et al., 2013; Voges et al., 2018).

Outro fator que pode explicar este resultado é o estresse térmico que causa o aumento dos níveis de cortisol (Silanikove, 2000), e este, influencia na permeabilidade das *tight junctions*, permitindo a passagem de componentes do soro para o leite e vice-versa (Stelwagen, et al., 2000). A situação de estresse ainda pode ser agravada pela falta de sombreamento na pastagem e a baixa disponibilidade de água. Porém, os períodos de maior ocorrência de LINA podem variar de acordo com a região em estudo (Zanela et al., 2009). No Rio Grande do Sul, a maior ocorrência foi na estação climática de outono, correspondente aos meses de março a junho, caracterizados pela baixa disponibilidade de alimento (Marques et al., 2007; Fisher et al., 2012; Battaglini et al., 2013). No presente estudo também houve uma redução na graduação necessária para causar a coagulação entre os meses de maio e junho, possivelmente indicando uma escassez de alimentos devido à entressafra de pastagens de clima quente e de clima frio. A maior incidência de LINA em alguns meses, devido ao desbalanço nutricional poderia ser atenuada se houvesse assistência técnica nas propriedades participantes desta pesquisa, principalmente no que se refere o manejo nutricional e de ordenha, aonde foram identificados alguns limitantes.

Tabela 3 - Distribuição da média de concentração necessária para causar a coagulação na prova do álcool entre os meses de agosto de 2016 a julho de 2017 (n = 1.035).

Mês	Concentração alcoólica (%)*	Desvio padrão (%)
Agosto/2016	78,9 ^{ac}	±1,19
Setembro/2016	79,5 ^a	±0,96
Outubro/2016	79,3 ^a	±1,00
Novembro/2016	79,3 ^a	±1,13
Dezembro/2016	78,8 ^a	±1,37
Janeiro/2017	78,9 ^a	±1,56
Fevereiro/2017	77,9 ^b	±1,30
Março/2017	78,3 ^{bc}	±1,08
Abril/2017	78,9 ^{ab}	±1,45
Maió/2017	78,5 ^{bc}	±1,59
Junho/2017	78,9 ^a	±1,28
Julho/2017	79,1 ^a	± 1,36
p-valor **	0,0164	

*Letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Wald (5%) ou pela razão da verossimilhança.

**Decomposição da Análise de regressão (teste F).

Conforme os resultados obtidos por Werncke et al. (2016), existe uma relação positiva entre o aporte nutricional, a produtividade animal e a estabilidade do leite, o que ressalta a importância do aporte energético adequado para sustentar a produção e a síntese dos componentes lácteos com reflexos positivos destes sobre a estabilidade. O resultado da pesquisa de Werncke et al. (2016) concorda com os resultados desta pesquisa, em que, na análise de regressão, realizada em função do LINA acumulado, as únicas variáveis que apresentaram influência significativa foram a área total destinada à alimentação dos animais ($p = 0,01$) e a produção média de leite por vaca e por dia ($p = 0,02$), com um R^2 ajustado de 0,723. Neste sentido, é importante evidenciar que não foram avaliadas as quantidades e a composição da dieta ofertada aos animais durante o período do estudo.

A correlação entre o LINA acumulado e a área total destinada à alimentação foi negativa ($p = -0,34$) e significativa ($p = 0,02$), o que determina que quanto menor a área total destinada à alimentação, maior é a probabilidade da ocorrência de LINA. Este resultado complementa a pesquisa feita entre os meses do ano, onde foram encontradas as menores graduações alcoólicas para os casos positivos de LINA nas propriedades leiteiras durante os

meses de fevereiro, março e maio, que coincidem com a menor disponibilidade de alimento. Estudos avaliando a influência da restrição alimentar sobre a estabilidade da caseína já foram realizados, e todos concordam com a afirmação de que a restrição de alimento aumenta a ocorrência de LINA (Barbosa et al., 2012).

A região abrangida pela pesquisa é caracterizada por pequenas propriedades rurais, o tamanho da fazenda tem influência sobre a ocorrência de LINA, uma vez que a disponibilidade de área para alimentação é menor, e isto ocorre quando a taxa de lotação não é adequada, além da relação com a qualidade de pastagem. Conforme Costa et al. (2013), os principais desafios dos sistemas de produção a pasto são os períodos de baixa disponibilidade de pastagens, principalmente quando a falta de nutrientes não é suprida pela suplementação volumosa ou de concentrado comercial.

Vários autores encontraram menores percentuais de lactose em amostras de LINA, comparado ao leite estável (Marques et al., 2007). Este fator está associado à facilidade da passagem dos componentes do soro para o leite pelas *tight junctions* (Stelwagen et al., 2000). Em função da diminuição da lactose, pode haver maior passagem de minerais para o leite, consequentemente, aumento da força iônica, redução do pH e o aumento da solubilização do cálcio iônico. Todas estas características aumentam as chances da desestabilização das micelas de caseína, principalmente devido ao efeito do LINA acumulado em alguns períodos de escassez de alimento. Todavia, o atendimento às exigências nutricionais acompanha a maior estabilidade do leite ao teste do álcool (Stumpf et al., 2016), possivelmente devido a uma permeabilidade reduzida das *tight junctions* em animais bem alimentados (Stumpf et al., 2016). A pesquisa de Voges et al. (2018) complementa este trabalho, pois encontraram menores teores de caseína, lactose e gordura no leite produzido em grupo de propriedades que tinham maior ocorrência de LINA. Nelas, a suplementação de volumoso e concentrado comercial era inferior, além de haver maior teor de FDN nas pastagens.

A correlação entre o LINA acumulado e o volume médio de leite produzido por vaca por dia também foi negativa ($p = -0,48$) e significativa ($p = 0,001$), o que significa que quanto menor a média produzida por dia pelo animal, maior foi a probabilidade da ocorrência de LINA. Estudos relacionando a produção média por vaca e o LINA são escassos na literatura, porém, alguns autores apontam que houve maior prevalência de LINA nos produtores que comercializaram menores volumes de leite de tanque (Marques et al., 2007; Zanela et al., 2009). Recentemente, Voges et al. (2018) encontraram a relação inversa entre a produção de leite/vaca/dia nas propriedades e a ocorrência de LINA e atribuíram este fator ao baixo investimento em estrutura e tecnologia.

4. Considerações Finais

A incidência de LINA aumentou concomitante ao aumento da graduação alcoólica. As correlações negativas entre o “LINA acumulado” com a extensão de terra disponível para a produção de alimento e a produtividade dos animais evidenciam que a alimentação é primordial em qualquer sistema de produção e ao longo de todo o ano. O estudo concluiu que a graduação alcoólica de 76% v/v seria a mais eficiente para selecionar as amostras de leite estáveis para a indústria de lácteos.

Referências

Barbosa, R. S., Fischer, V., Ribeiro, M. E. R., Zanela, M. B., Stumpf, M. T., Kolling, G. J., Júnior, J. S., Barros, L. E., & do Egito, A. S. (2012). Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(4), 621-628.

Battaglini, A. P. P., Beloti, V., Fagnani, R., Tamanini, R., Dunga, K. S. (2013). Caracterização físico-química e microbiológica do leite bovino instável não ácido em função das estações do ano. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(1), 26-32.

Bitencourt, D.; Pegoraro, L. M. C., Gomes, J. F., Vetromila, M. A. M., Ribeiro, M. E. R., & Stumpf, W.J. (2000). Sistemas de pecuária de leite: uma visão na região de clima temperado. Pelotas: Embrapa Clima Temperado.

Brasil (2018). Instrução Normativa n.º 76 de 26 de novembro de 2018. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, 30 nov. 2018. Disponível em: <https://bit.ly/2VdD5DW>. Acessado em: 14 jan. 2020.

Brasil (2006). Instrução Normativa n.º 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União (DOU), 13 dez. 2006.

Chavez, M. S., Negri, L. M., Taverna, M. A., Cuatrín, A. (2004). Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. *Journal of Dairy Research*, 71, 201-206.

Costa, J. H. C., Hötzel, M. J., Longo, C., & Balcão, L. F. (2013). A survey of management practices that influence production and welfare of dairy cattle on family farms in southern Brazil. *Journal of Dairy Science*, 96, 307-317.

Fagnani, R., Battaglini, A. P. P., Beloti, V., & de Araújo, J. P. A. (2016). Estabilidade do leite ao álcool ainda pode ser um indicador confiável? *Ciência Animal Brasileira*, 17(3), 386-394.

Fischer, V., Ribeiro, M. E. R., Zanela, M. B., Marques, L. T., Abreu, A. S. D., Machado, S. C., Fruscalso, V., Barbosa, R. S., & Stumpf, M. T. (2012). Leite instável não ácido: um problema solucionável? *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 13(3), 838-849.

Freitas, H., Oliveira, M., Saccol, A. Z., & Moscarola, J. (2000). O método de pesquisa survey. *Revista de Administração*, 35, 105-112.

Goulart, J. Q., Piccinini, A., & Pinto, A. T. (2019). Caracterização do queijo fresco produzidos com leite de diferentes graus de estabilidade ao etanol. *Pubvet*, 13(12), 1-7.

Machado, S. C., Fischer, V., Stumpf, M. T., Stivanin, S. C. B., (2017). Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 340-347.

Marques, L. T., Fischer, V., Zanela, M. B., Ribeiro, M. E. R., Stumpf, W., & Manzke, N. (2010). 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*, 39(12), 2724-2730.

Marques, L. T., Zanela, M. B., Ribeiro, M. E. R., Stumpf, W., & Fischer, V. (2007). Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. *Revista Brasileira de Agrociência*, 13(1), 91-97.

Molina, L. H., Gonzalez, R., Brito, C., Carrillo, B., & Pinto, M. (2001). Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de um centro de acopio lechero. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 33(2), 233-240.

Santos, M. V., & Fonseca, L. F. L. (2019). Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. São Paulo: Manole, 301p.

Silanikove, N. (2000). Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science*, 67, 1-18.

Silva, L. C. C., Beloti, V., Tamanini, R., Yamada, A. K., Giombelli, C. J., & Silva, M. R. (2012). Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 67(384), 55-60.

Stelwagen, K., Hopster, H., Van Der Werf, J. T. N., & Blokhuis, H. J. (2000). Short Communication: effects of isolation stress on mammary tight junctions in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88, 48-51.

Stumpf, M. T., Fischer, V., Kolling, G. J., da Silva, A. V., Ribeiro, M. E. R., dos Santos, C. S. (2016). Behaviors associates with cows more prone to produce milk with reduced stability to ethanol test due to feeding restriction. *Ciência Rural*, 46(9), 1662-1667.

Tronco, V. M. (2010). Manual de Inspeção da Qualidade do Leite. Santa Maria: UFSM.

Voges, J. G. F., Canabarro, N. C., de Oliveira, L., Knob, D. A., Kazama, D. C. S., & Thaler Neto, A. (2018). Relationship between farm structure and animal feed in unstable non-acid milk occurrence in planalto norte of Santa Catarina. *Ciência Animal Brasileira*, 19, 1-13.

Werncke, D., Gabbi, A. M., Abreu, A. S., Felipus, N. C., Machado, N. L., Cardoso, L. L., Schimid, F. A., Alessio, D. R. M., Fischer, V., & Thaler Neto, A. (2016). Qualidade do leite e perfil das propriedades leiteiras no sul de Santa Catarina: abordagem multivariada. *Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 68, 506-516.

Winck, C. A., Thaler Neto, A. (2012). Perfil de propriedades leiteiras de Santa Catarina em relação à Instrução normativa 51. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 13, 296-305.

Zanela, M. B., Ribeiro, M. E. R., Fischer, V. (2009). Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61, 1009-1013.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Guilherme Augusto Manske – 30%

Beatriz Danieli – 12%

Gian Ricardo Zuffo – 12%

Elisandra Rigo – 12%

Fábio José Gomes – 12%

Aline Zampar – 10%

Ana Luiza Bachmann Schogor – 12%