REVISTA
DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES
v. 77, n. 2, abril-jun 2022

Revisão DOI: 10.14295/2238-6416.v77i2.876

FATORES QUE INFLUENCIAM A ESTABILIZAÇÃO DO SISTEMA LÁCTEO E LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO: UMA REVISÃO

Factors that influence the stabilization of the milk system and non-acid unstable milk: a review

Amanda Gentil Polizeli[1], Larissa Fernandes da Cruz[1], Rodrigo Corrêa Silva[1], Elisandra Rigo[1], Ana Luíza Bachmann Schogor[1]*

RESUMO

A estabilidade é fator importante para o aumento da vida útil dos lácteos e esta pode ser afetada por diversos fatores, desta forma, garantir essa estabilidade pode proporcionar uma melhor qualidade do produto final. A ocorrência de leite instável não ácido (LINA) causa prejuízos aos produtores e laticínios, pois apresenta risco de coagulação durante processamentos térmicos na indústria. Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma revisão a partir da composição do leite e abordar os principais fatores que afetam a sua estabilidade, que são essenciais para compreender o comportamento dos derivados lácteos e desenvolvimento de novos produtos. A estabilidade das micelas é atribuída à sua carga negativa líquida e repulsão estérica pela região macropeptídica flexível da κ-caseínas. O fosfato de cálcio coloidal está em equilíbrio dinâmico com o fosfato de cálcio presente no soro. Esse equilíbrio depende de condições físico-químicas como temperatura, pH, presença de diferentes minerais e força iônica. O baixo pH, enzimas proteolíticas específicas e etanol podem resultar na desestabilização das micelas de caseínas. A estabilidade térmica diminui de acordo com o aumento de acidez do leite, ou pode ser alterada por fatores ambientais, genéticos e nutricionais das vacas leiteiras, como por exemplo, a ocorrência do Leite Instável Não Ácido (LINA). Quando a estabilidade da estrutura micelar da proteína está fraca, devido a fatores como a acidez, a amostra coagula na prova do álcool.

Palavras-chave: estabilidade; componentes; LINA; caseínas; soroproteínas.

ABSTRACT

Stability is an important factor to increase the shelf life of dairy products, and this can be affected by several factors, thus ensuring this stability can provide a better quality of the final product. The occurrence of unstable non-acid milk (UNAM) causes losses to producers and dairy products, as it presents a risk of coagulation

1 Universidade do Estado de Santa Catarina, Avenida Madre Benvenuta, n. 2007, Itacorubi, 88035-901, Florianópolis, SC, Brasil. E-mail: geentil@hotmail.com

*Autor para correspondência

Recebido / Received: 05/07/2021 ***Aprovado / Approved: 30/12/2021***

during thermal processing in the industry. Given the above, the aim of this study was to develop a review based on the composition of milk and address the main factors that affect its stability, which is essential to understand the behavior of dairy products and the development of new products. The stability of micelles is attributed to their net negative charge and steric repulsion by the flexible macropeptide region of κ-casein. Colloidal calcium phosphate is in dynamic equilibrium with the calcium phosphate present in serum. This balance depends on physicochemical conditions such as temperature, pH, the presence of different minerals, and ionic strength. Low pH, specific proteolytic enzymes, and ethanol can result in the destabilization of casein micelles. Thermal stability decreases as the acidity of the milk increases, or it can change according to environmental, genetic, and nutritional factors in dairy cows, such as the occurrence of Unstable Non-Acid Milk (UNAM). When the stability of the protein micellar structure is poor, due to factors such as acidity, the sample coagulates in the alcohol test.

Keywords: milk; stability; components; UNAM; caseins; serum proteins.

INTRODUÇÃO

O leite é uma combinação de diversos elementos sólidos em água. Os sólidos representam aproximadamente 12% a 13% do leite e a água, aproximadamente 87%, sendo os principais: lipídios (gordura), carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas. Esses elementos, suas distribuições e interações são determinantes para a estrutura, propriedades funcionais e aptidão do leite para processamento. As micelas de caseínas e os glóbulos de gordura são responsáveis pela maior parte das características físicas (estrutura e cor) encontradas nos produtos lácteos (BRITO *et al*., 2021).

Conforme o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), artigo 235, entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2017).

A composição do leite pode variar de acordo com o estágio de lactação, no colostro, o conteúdo de proteína é maior e o de lactose encontra-se reduzido. Outros fatores que podem interferir na composição do leite são: raça das vacas, alimentação (plano de nutrição e forma física da ração), temperatura ambiente, manejo e intervalo entre as ordenhas, produção de leite e infecção da glândula mamária (BRITO *et al*., 2021).

As proteínas do leite são os principais responsáveis pela formação da estrutura dos produtos lácteos. As caseínas representam cerca de 80% do conteúdo total de proteínas do leite, sendo o restante, as soroproteínas. As caseínas se auto-organizam em estruturas coloidais conhecidas como micelas de caseínas e constituem cerca de 10% do volume do leite desnatado. Ao compreender e prever seu comportamento coloidal durante o processamento, é possível modular sua funcionalidade tecnológica quando usado como ingrediente chave para estruturar matrizes lácteas (CORREDIG *et al*., 2019). Outra parte importante da proteína do leite é a fração de soroproteína do leite, que se refere à proteína solúvel ou proteína sérica (MORALES *et al*., 2021). Desta forma, a estabilidade do leite refere-se à capacidade relativa das proteínas do leite resistirem ao processamento térmico industrial (estabilidade térmica) ou à reação com o etanol (estabilidade do leite ao etanol) sem sofrer coagulação (FISCHER *et al*., 2012).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma revisão a partir da composição do leite e leite instável não ácido, abordando os principais fatores que afetam a sua estabilidade, que são essenciais para entender o comportamento dos derivados lácteos.

LEITE

Almeida; Belo (2020) definem o leite como um alimento de grande importância na alimentação humana, devido ao seu elevado valor nutritivo. Como fonte de proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas, o leite torna-se também um excelente meio para o crescimento de vários grupos de microrganismos desejáveis e indesejáveis.

As proteínas do leite são componentes importantes dos alimentos, proporcionando propriedades funcionais e excelente nutrição. Além de conter aminoácidos e minerais de alta qualidade que contri-

buem para a saúde humana devido à sua alta digestibilidade e biodisponibilidade, estas proteínas desempenham um papel fundamental na formação da matriz e estrutura dos alimentos, devido às interações físico-químicas entre as proteínas e os componentes dos alimentos durante o seu processamento(YE, 2021).

CASEÍNAS

As caseínas são as principais proteínas do leite (~ 80%), consistindo principalmente em quatro frações: αs1, αs2, β- e κ-caseínas. As caseínas existem naturalmente em uma estrutura agregada chamada micelas de caseínas que são mantidas juntas por *nanoclusters* de fosfato de cálcio, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, sendo altamente hidratadas, com um tamanho médio de cerca de 200 nm (GUO *et al*., 2021). Desta forma, uma super molécula é formada e o complexo é estabilizado pela ligação de κ-caseínas (NAITO *et al*., 2020).

A estabilidade das micelas é atribuída à sua carga negativa líquida e repulsão estérica pela região macropeptídica flexível da κ-caseínas (os chamados "cabelos"). Diferentes tipos de interações são responsáveis pela integridade da micela, incluindo interações induzidas por Ca entre moléculas de proteínas, ligações eletrostáticas, hidrofóbicas e de hidrogênio. Essas interações provavelmente também estão envolvidas na formação e nas propriedades estruturais dos géis de caseínas (LUCEY, 2017).

Desde os anos 1960, há um debate científico sobre a organização interna das micelas de caseínas. O consenso é que a estrutura das micelas de caseínas é principalmente estabilizada por interações hidrofóbicas e iônicas (SILVA *et al*., 2019).

FATORES QUE ALTERAM A ESTABILIDADE DAS CASEÍNAS

As micelas de caseínas no leite são muito estáveis ao processamento como alta temperatura, homogeneização comercial, alta força iônica e íons de cálcio. No entanto, baixo pH, enzimas proteolíticas específicas e etanol podem resultar na desestabilização das micelas de caseínas. Abaixar o pH até o ponto isoelétrico das caseínas causa precipitação e o fosfato de cálcio micelar é totalmente removido quando o pH é ≤ 4,9. Além disso, algumas enzimas de coagulação do leite, por exemplo, quimosina e pepsina, podem catalisar especificamente a hidrólise da κ-caseínas, que é dividida em uma fração insolúvel (para-κ-caseínas) e uma fração solúvel (caseinomacropeptídeo), dependendo do grau de glicosilação da κ-caseínas (LUCEY, 2017).

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

A coagulação do leite por enzimas proteolíticas envolve dois estágios: hidrólise enzimática, que altera as κ-caseínas e causa uma perda de sua capacidade de estabilizar as micelas de caseínas; agregação das micelas de caseínas alteradas. A agregação das micelas de caseínas pode formar um coágulo firme (coágulo) ou um coágulo fraturado macio (coalhada), que vai depender das condições ambientais, da estrutura e da composição do coágulo formado (YE, 2021).

Para o segundo estágio, a agregação das micelas do leite, devido à perda de repulsão eletrostática e repulsão estérica das κ-caseínas, depende do nível de clivagem das κ-caseínas. A proteólise das κ-caseínas também leva a uma diminuição significativa no potencial zeta das micelas de caseínas, o que pode aumentar a sensibilidade ao estresse ambiental no estômago e promover a coagulação coloidal das micelas de caseínas durante a digestão gástrica. Sob condições gástricas na presença de Ca^{+2} e força iônica, a agregação das micelas de caseínas induzida pela proteólise da pepsina pode ser promovida. A presença de íons de cálcio facilita a formação do coágulo conectando micelas como uma ponte e induzindo condições isoelétricas (HORNE, 2020).

SOROPROTEÍNAS

As soroproteínas representam uma fração menor da proteína total do que as caseínas. Ao contrário da fração de caseínas, que consiste em 3 a 4 produtos gênicos intimamente relacionados, a fração de soroproteína de leite é muito mais diversa, contendo um grande número de proteínas que variam em tamanho e função biológica (ZHU; DINGESS, 2019). Por concentração, as principais soroproteínas do leite da maioria das espécies de mamíferos são β-

lactoglobulina, α-lactalbumina, albumina sérica sanguínea e as imunoglobulinas. Juntos, eles representam mais de 75% das soroproteínas do leite da maioria das espécies. Estruturalmente, todos eles têm estrutura secundária e terciária bem definidas, com um papel importante das ligações dissulfeto intermoleculares na estrutura (HUPPERTZ; CHIA, 2021).

SAIS DO LEITE

A fração mineral representa apenas 0,8% - 0,9% dos constituintes totais do leite, que contém principalmente cálcio, fósforo inorgânico, magnésio, sódio, potássio, citrato e cloro. No entanto, os minerais têm um papel crucial no controle da estabilidade térmica do leite e de seus derivados. O sistema mineral do leite permanece em equilíbrio dinâmico entre as micelas de caseínas e a fase sérica do leite, que pode ser influenciado pelo pH e temperatura. O cálcio no leite existe parcialmente como fosfato de cálcio coloidal (associado às micelas de caseínas) e parcialmente na fase sérica como cátions de cálcio livres ou em pares de íons com ânions citrato, fosfato e cloreto (SINGH *et al*., 2021).

O fosfato de cálcio coloidal está em equilíbrio dinâmico com o fosfato de cálcio presente no soro. Esse equilíbrio depende de condições físico-químicas como temperatura, pH, presença de diferentes minerais e força iônica (ACOSTA *et al*., 2020).

O cálcio é muito reconhecido por influenciar a estabilidade do sistema de micelas de caseínas coloidal no leite. Citrato de cálcio e fosfato de cálcio são os dois principais sais presentes no leite. O fosfato de cálcio tende a precipitar durante o processamento. O que se deve às reações físico-químicas que levam à sua reduzida solubilidade em altas temperaturas, conforme observado no tratamento de ultra alta temperatura (UHT) (SINGH *et al*., 2021).

EQUILÍBRIO SALINO, TEMPERATURA E pH DAS MICELAS DAS CASEÍNAS E SOROPROTEÍNAS

Um fator importante para a estabilização do leite é o equilíbrio dos sais, o qual pode ser afetado durante o processamento industrial dos produtos lácteos, principalmente na realização do tratamento térmico, a qual é uma etapa muitas vezes utilizada para reduzir a contagem de microrganismos a níveis seguros e aumentar a vida útil do leite. O fosfato de cálcio formado é um sal reversível em termos de solubilidade, após o tratamento térmico. Se a temperatura for inferior a 90 °C, a mudança de sais difusíveis para a fase micelar é considerada reversível após o resfriamento. Além disso, o aumento do cálcio e do fosfato micelar é atribuído aos ajustes dependentes da temperatura, do tamanho ou número de *nanoclusters* de micelas de caseínas. Ao contrário, tratamentos térmicos severos (por exemplo, 120 °C por 10 min) causam mudanças irreversíveis na partição do sal, provavelmente devido às modificações na estrutura das micelas (WANG; MA, 2020).

Além da temperatura, o pH é outra variável importante para estabilidade. As micelas de caseínas são sensíveis ao pH por meio de vários mecanismos. A redução do pH diminui o conteúdo de cálcio por meio de seu efeito na solubilidade do fosfato de cálcio, mas também pode promover interações proteína-proteína, pois sua carga líquida é reduzida. O aumento do pH tende a diminuir as interações proteína-proteína à medida que a carga líquida aumenta. A remoção do cálcio das micelas por agentes quelantes como o EDTA também leva à dissociação das caseínas na solução (SINGH *et al*., 2021).

Ao contrário das caseínas, as soroproteínas em seu estado nativo dificilmente têm tendência à coagulação como resultado do pH; mesmo em seu pH isoelétrico (por exemplo, ~5,3 para β-Lg, ~4,2 para α-La) as proteínas permanecem em solução em temperaturas menores que 50 °C (HUPPERTZ; CHIA, 2021). A estrutura, no entanto, é propensa ao desdobramento induzido pelo calor e todas essas proteínas têm uma temperatura de desnaturação menor que 80 °C. Após o desdobramento induzido pelo calor, as soroproteínas podem agregar, com ligações covalentes sendo formadas por meio de ligações dissulfeto intermoleculares. O grupo tiol livre em β-Lg é crucial neste processo para iniciar as reações de intercâmbio sulfidril-dissulfeto. As interações podem ser com outras soroproteínas de leite, mas também com as κ-caseínas, que contém ligações dissulfeto intermoleculares. A desnaturação induzida pelo calor tem grandes efeitos na funcionalidade da soroproteína (ANEMA, 2019).

FATORES EXTRÍNSECOS

Segundo Moradi *et al*. (2021) um dos fatores que afeta diretamente a estabilidade do leite é a alta contagem de células somáticas. A plasmina, a elastase e a catepsina D são as enzimas proteolíticas primárias do leite, que são geralmente encontradas no leite de úberes saudáveis e infectados com células somáticas elevadas. Esta, por sua vez, é derivada do plasminogênio e é provável que se desloque para o leite devido à destruição do epitélio. Vários fatores, por exemplo, a presença de células somáticas facilitam a ativação do plasminogênio em plasmina no leite (PANTHI *et al*., 2017). A conversão do plasminogênio em plasmina resulta na proteólise das caseínas, influenciando assim na estabilidade térmica (MORADI *et al*., 2021).

A mastite bovina, uma inflamação do tecido mamário, diminui a produção, a qualidade do leite e a eficiência reprodutiva, causando enormes perdas econômicas (JAMALI *et al.,* 2018). A sanidade da glândula mamária (mastite subclínica) aparentemente não exerce efeitos marcantes sobre a estabilidade do leite no teste do álcool, por isso existem dúvidas sobre até que ponto o teste do álcool consegue identificar leites provenientes de animais com a mastite (ROSA *et al*., 2017).

Já foi constatado, segundo Rosa *et al*. (2017), que o estádio de lactação pode ser fator para alteração da estabilidade do leite, possivelmente pela alteração na concentração de proteínas, cátions divalentes e sua proporção com ânions e equilíbrio salino. Além disso, outro fator a ser levado em consideração é o consumo de nutrientes e alterações digestivas e metabólicas, que podem se relacionar a instabilidade do leite. Uma causa provável para explicar tal fato é a acidose metabólica induzida pela acidose ruminal ou pela inclusão de sais à dieta do animal.

LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)

Como já exposto, a estabilidade térmica diminui de acordo com o aumento de acidez do leite, ou pode alterar de acordo com fatores ambientais, genéticos e nutricionais das vacas leiteiras, diminuindo assim a estabilidade ao teste do etanol. As alterações de estabilidade do leite sem aumento de acidez foram denominadas de leite instável não ácido (LINA) (FISCHER *et al*., 2012).

A Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento evidencia a preocupação com as condições higiênico-sanitárias do leite, porém não faz referência a composição química, que também é importante para a obtenção de produtos de qualidade, e pode estar relacionada com as causas para a ocorrência do LINA (BRASIL, 2018).

A ocorrência de leite instável não ácido (LINA) causa prejuízos aos produtores e laticínios, em consequência da penalização aos produtores e do risco de coagulação da matéria-prima em alguns processamentos térmicos na indústria (FAGNANI, 2018). Para ser classificado como LINA, o leite deve ser instável ao teste do álcool a 72% (v/v), sem apresentar acidez titulável acima de 18 °D (GABBI *et al.,* 2016).

Estudos sobre LINA em regiões tropicais semiáridas são raros (FARIA *et al.*, 2017). É importante conhecer a dinâmica da ocorrência de LINA em diferentes locais e estações do ano (LI, 2019), pois essa alteração é de origem complexa e multifatorial, segundo Fagnani (2018). Em um estudo realizado por Manske *et al*., (2020), que avaliaram as propriedades leiteiras correlacionando suas características com a ocorrência de LINA, também foi evidenciado a importância da alimentação adequada na produção de alimentos e produtividade do animal levando em consideração a sazonalidade. Desta forma, a dieta se caracteriza como um fator importante para manutenção da estabilidade e produção de alimentos com qualidade. A Tabela 1 apresenta as referências e descrevem os fatores que contribuem para a ocorrência do leite LINA a partir das pesquisas obtidas.

Portanto, quando a amostra coagula na prova do álcool, é porque a estabilidade da estrutura micelar está fraca, e isso pode ocorrer devido a fatores já citados anteriormente, como a acidez (neste caso, devido a contaminação) ou algum desequilíbrio no sistema, como por exemplo, o aumento do cálcio iônico do leite (MARTINS et al., 2015).

Fatores nutricionais e metabólicos, como o DCAD (diferença cátion-ânion dietética), influenciam diretamente na estabilidade do leite para etanol e durante o aquecimento a 140 °C, que é diminuída linearmente com a redução de DCAD devido a alterações no equilíbrio iônico do leite e as interações entre as proteínas do leite na micela (MARTINS et al., 2015).

Tabela 1. Fatores que contribuem para a ocorrência do leite instável não ácido

Autores	Fatores
Fagnani *et al*., (2018)	A alimentação dos rebanhos e das condições climáticas regionais.
Zanela; Ribeiro, (2018)	Restrição alimentar, baixa ingestão de matéria seca e/ou tempo de alimentação insuficiente
Gabbi *et al*., (2016)	A redução do aporte de energia ao tecido epitelial mamário.
Faria *et al*., (2017)	O clima quente e seco e de baixo índice pluviométrico.
Beloti (2015)	Desequilíbrio de sais, desequilíbrio entre energia e proteína na alimentação, qualidade ou substituições do sal mineral ou do concentrado, rebrota de capim e estresse térmico.
Vidal *et al*., (2018)	O manejo do rebanho, a alimentação e o potencial genético.
Angelo *et al*., (2017)	A homogeneização inadequada do leite do tanque de resfriamento antes do teste de álcool.

Segundo Fagnani *et al*. (2018), a instabilidade ao álcool aumenta com a redução da concentração de lactose e, indiretamente, com a diminuição de α-lactalbumina, promotor da síntese de lactose.

O consumo de LINA não representa risco à saúde humana, mas há limitação durante o processamento industrial em razão da provável menor resistência térmica. Na última década, foi observado no Brasil, uma elevada ocorrência de leite instável sem acidez, o que resultou em grandes prejuízos a todos os elos da cadeia agroindustrial do leite, pois o LINA não é captado ou então o produtor recebe uma penalização no pagamento (FISCHER *et al*., 2012). Em detrimento disso, o aproveitamento do LINA poderia ser condicionado aos produtos menos exigentes em estabilidade térmica, mas permitindo seu aproveitamento por parte da indústria (FISCHER *et al*., 2011).

Backes *et al* (2012) apontaram que LINA possui características nutricionais semelhantes ao leite comum, com maior teor de gordura e menor teores de caseínas, afirmando que o leite LINA é rejeitado pela indústria pelo fato de não ser estável ao processo térmico para leite UHT. Então esse leite pode ser usado na fabricação de derivados para consumo humano, no entanto sem passar por processos térmicos abrangentes, como leite pasteurizado, iogurte, queijo, manteiga ou leite em pó. Silva *et al*. (2012) relataram que o LINA é estável ao tratamento térmico e pode passar pela pasteurização industrial, sem necessidade de rejeição a esse tipo de leite.

Nas pesquisas realizadas sobre a produção de laticínios LINA, não foram observadas alterações no processamento do iogurte batido em termos de tempo de fermentação, pH e viscosidade. O leite com teste de álcool positivo e boas condições sanitárias apresenta boa capacidade de coagulação e pode ser utilizado na produção de queijos sem inconvenientes (ZANELA *et al.*, 2015). No processamento de queijos, não foram observadas mudanças significativas na produção industrial com amostras positivas e negativas de LINA, portanto, o leite instável pode ser usado para fazer alguns laticínios, pois não causa problemas à saúde pública (BRASIL *et al.*, 2015).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A estabilidade das micelas de caseínas é atribuída principalmente à sua carga negativa líquida e repulsão estérica pela região macropeptídica flexível da κ-caseínas. O baixo pH, enzimas proteolíticas específicas e etanol podem resultar na desestabilização das micelas de caseínas, assim como a conversão do plasminogênio em plasmina, resulta na proteólise das caseínas, influenciando assim na estabilidade térmica do leite.

Já em relação ao LINA, quando a amostra coagula na prova do álcool, é porque a estabilidade da es-

trutura micelar está fraca, e isso pode ocorrer devido a fatores como a acidez elevada. Além do mais, existem vários fatores que podem levar a ocorrência do LINA, tais como clima, alimentação, raça, período de lactação e a própria saúde do animal.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, N. B. *et al*. Milk fortified with calcium: changes in the physicochemical and rheological characteristics that affect the stability. **LWT - Food Science and Technology**, v. 134, n. 110204, 2020. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110204

ALMEIDA, F. M.; BELO, M. A. A. Qualidade de leite bovino produzido em propriedades de agricultura familiar, Cacoal/RO. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 14, n. 3, p. 98-98, 2016.

ANEMA, S. G. The whey proteins in milk: thermal denaturation, physical interactions, and effects on the functional properties of milk. *In*: BOLAND, M.; SINGH, H. **Milk Proteins.** 3. ed. San Diego: Academic Press, 2019. p. 325-384.

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: CBQL, 2017. p. 204-205.

BACKES, R.G.; STEFANI, L.M.; PASETTI, M. Leite termicamente instável – problemas e soluções tecnológicas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 11, n. 3, p. 254-260. 2012.

BELOTI, V. **Leite**: obtenção, inspeção e qualidade. Londrina: Editora Planta. 2015.

BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 62, p. 3, 30 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 230, p. 9, 30 nov. 2018.

BRASIL, R. B.; NICOLAU, E. S.; SILVA, M. A. P. Leite instável não ácido e fatores que afetam a estabilidade do leite. **Ciência Animal**, v. 25, n. 4. p. 15-26, 2015.

BRITO, M. A. *et al*. **Composição do leite**. Disponível em: https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/criacoes/gado_de_leite/pre-producao/qualidade-e-seguranca/qualidade/composicao Acesso em: 30 maio. 2021.

CORREDIG, M. *et al*. Invited review: Understanding the behavior of caseins in milk concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 6, p. 4772-4782, 2019. DOI: 10.3168/jds.2018-15943

FAGNANI, R.; ARAÚJO, J. P. A.; BOTARO, B. G. Field findings about milk ethanol stability: a first report of interrelationship between α-lactalbumin and lactose. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 7, p. 2787-2792, 2018. DOI: 10.1002/jsfa.8775

FARIA, P. F. *et al.* Unstable milk occurrence in the semi-arid region and its relation with the physico-chemical characteristics of milk. **Livestock Research for Rural Development**, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2017

FISCHER, V. *et al.* Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 838-849, 2012.

FISCHER V. *et al.* Leite instável não ácido (LINA): prevenção na propriedade leiteira e impactos nos laticínios. *In:* SIMPÓSIO NACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 3.; INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF DAIRY CATTLE, 1., 2011, Viçosa. **Anais [...]**. Viçosa: UFV, 2011. p.45-65.

GABBI, A. M. *et al.* Milk traits of lactating cows submitted to feed restriction. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, n. 1, p. 37-43, 2016. DOI: 10.1007/s11250-015-0916-2

GUO, Y. *et al*. Stability of acidified milk drinks induced by various polysaccharide stabilizers: a review. **Food Hydrocolloids**, v. 118, p. 106814, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2021.106814

HORNE, D. S. Casein micelle structure and stability *In*: BOLAND, M.; SINGH, H. (ed.). **Milk Proteins**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2019. p. 213-250.

HUPPERTZ, T.; CHIA, L. W. Milk protein coagulation under gastric conditions: a review. **International Dairy Journal**, v. 113, n. 104882, 2021. DOI: 10.1016/j.idairyj.2020.104882

JAMALI, H.; KRYLOVA, K.; AÏDER, M. Identification and frequency of the associated genes with virulence and antibiotic resistance of Escherichia coli isolated from cow's milk presenting mastitis pathology. **Animal Science Journal**, v. 89, n. 12, p. 1701-1706, 2018. DOI: 10.1111/asj.13093

LI, S.; YE, A.; SINGH, H. Seasonal variations in composition, properties, and heat-524 induced changes in bovine milk in a seasonal calving system. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 9. p.7747-7759, 2019. DOI: 10.3168/jds.2019-16685

LUCEY, J. A. Formation, structural properties, and rheology of acid-coagulated milk gels. *In*: McSWEENEY, P. L. H. *et al.* **Cheese**. San Diego: Academic Press, v. 1, 2017. p. 179-197.

MANSKE, G. A. *et al.* Ocorrência de Leite Instável Não Ácido (LINA) em propriedades comerciais da região Extremo Oeste de Santa Catarina. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, e715974654, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i7.4654

MARTINS, C. M. M. R.*et al.* Effect of dietary cation-anion difference on performance of lactating dairy cows and stability of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 2650-2661. 2015. DOI: 10.3168/jds.2014-8926

MORADI, M. *et al*. The relationship between milk somatic cell count and cheese production, quality and safety: a review. **International Dairy Journal**, v. 113, n. 104884, 2021. DOI: 10.1016/j.idairyj.2020.104884

MORALES, E. A. C. *et al*. Comparison of low- and high-methoxyl pectin for the stabilization of whey protein isolate as carrier for lutein. **Food Hydrocolloids**, v. 113, n. 106458, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106458

NAITO, K. *et al*. Binding analysis of bovine milk proteins, especially casein interactions and the interaction between α-casein and lactoferrin, using beads immobilised with zinc ion, poly-L-lysine or α-casein. **International Dairy Journal**, v. 105, n. 104690, 2020. DOI: 10.1016/j.idairyj.2020.104690

PANTHI, R. R. *et al*. Selection and treatment of milk for cheesemaking. *In*: McSWEENEY, P. L. H. *et al.* **Cheese**. San Diego: Academic Press, v. 1, 2017. p. 23-50.

ROSA, P. P. *et al*. Fatores etiológicos que afetam a qualidade do leite e o Leite Instável Não Ácido (LINA). **REDVET - Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 12, p. 1-17, 2017.

SILVA, N. N. *et al*. Casein micelles: from the monomers to the supramolecular structure. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. 1-15, 2019. DOI: 10.1590/1981-6723.18518

SILVA, L. C. C. *et al.* Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 384, p. 55-60, 2012. DOI: 10.5935/2238-6416.20120008

SINGH, J. *et al*. Ultra high temperature stability of milk protein concentrate: effect of mineral salts addition. **Journal of Food Engineering**, v. 300, n. 110503, 2021. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110503

VIDAL, A. M. C.; NETTO, A. S. **Obtenção e Processamento do Leite e Derivados**. Pirassununga: USP, 2018. 220 p.

WANG, Q.; MA, Y. Effect of temperature and pH on salts equilibria and calcium phosphate in bovine milk. **International Dairy Journal**, v. 110, p. 104713, 2020. DOI: 10.1016/j.idairyj.2020.104713

YE, A. Gastric colloidal behaviour of milk protein as a tool for manipulating nutrient digestion in dairy products and protein emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 115, n. 106599, 2021. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2021.106599

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R. **LINA - Leite Instável Não Ácido**. Pelotas: EMBRAPA, 2018. 17 p.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; VIVIAN, F. Leite instável não ácido (LINA): do campo a indústria. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 6., 2015, Curitiba. **Anais [...]**. Curitiba: CBQL, 2015.

ZHU, J.; DINGESS, K. A. The functional power of the human milk proteome. **Nutrients**, v. 11, n. 8, p. 1-27, 2019. DOI: 10.3390/nu11081834