

Ocorrência de Leite Instável não Ácido na Região Oeste do Paraná

Occurrence of Non-Acid Unstable Milk in West Region of Parana

Itala Gouveia Marx

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Medianeira, PR
itala_marx@hotmail.com

Tassyana Crespan Lazzarotto

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Medianeira, PR
tassycl@hotmail.com

Deisy Alessandra Drunkler

Departamento de Engenharia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Medianeira, PR
deisydrunkler@utfpr.edu.br

Eliane Colla

Departamento de Engenharia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Medianeira, PR
ecolla@utfpr.edu.br

Resumo: A região oeste do Paraná apresenta condições favoráveis à produção leiteira, a qual possui um considerável impacto social e econômico, devido ao número de indústrias de laticínios aqui situadas que gera desenvolvimento da região e do mercado de trabalho. O Leite Instável não Ácido (LINA) é uma alteração no leite, cujas causas não estão definidas claramente e a falta de informação pode provocar significativos prejuízos à cadeia produtiva do leite. A principal consequência é a instabilidade da caseína, ocorrendo à alteração da composição química do leite, que apesar de ser próprio para consumo por ter seus parâmetros dentro da Instrução Normativa 51, é rejeitado pelas indústrias. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a

Recebido em 31/05/2011 - Aceito em 08/08/2011.

RECEN Guarapuava, Paraná v. 13 n° 1 p. 101-112 jan/jun 2011

ocorrência de LINA em amostras de leite cru coletadas na região Oeste do Paraná e sua influência sobre a composição e propriedades físico-químicas do leite. O estudo foi desenvolvido em Medianeira, PR, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR, no verão de 2010-2011, analisando-se 69 amostras de leite cru. Dessas amostras, 68,11% apresentaram anormalidade no quesito acidez, obtendo-se 23 amostras não ácidas e instáveis ao álcool (concentrações avaliadas 68%, 70% e 80% v/v), 16 alcalinas e 8 amostras de caráter ácido, somente 22 amostras se adequaram aos parâmetros normais de acidez. Dentre as amostras analisadas, a ocorrência de LINA foi de 33%. As análises de composição e propriedades físico-químicas de leite normal e do LINA não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$), estando ambos dentro dos parâmetros da Instrução Normativa 51.

Palavras-chave: composição do leite; instabilidade da caseína; leite cru; proteína.

Abstract: the Western region of Paraná has favorable conditions for milk production, which has a considerable social and economic impact due to the number of dairy industries located here which generates region's development and labor market. The LINA is a change in milk which causes are not clearly defined and the lack of information can cause significant losses to the milk production chain. The main consequence is milk casein instability, leading to a change in the chemical composition of milk, which despite being fit for consumption by having its parameters within the Normative Instruction 51it is rejected by industry. In this context, the objective of this study was to evaluate the occurrence of unstable milk non-acid (LINA) in raw milk samples collected in western Paraná and its influence on the composition and physic- chemical properties of milk. The study was conducted in Medianeira, PR, at Federal Technological University of Paraná-UTFPR in the summer of 2010-2011, analyzing 69 samples of raw milk. 68.11% of these samples showed abnormal acidity in the issue, resulting in 23 samples and non-acid-labile alcohol (68%, 70% e 80% v/v), 16 alkaline and acidic 8 samples, only 22 samples were taken within normal parameters of acidity. Among the samples analyzed, the occurrence of LINA was 33%. Analyzes of composition and physic-chemical properties of normal milk and LINA

no significant differences ($p > 0,05$), are both within the parameters of Instruction 51.

Key words: composition of milk; instability of the casein; protein; raw milk.

1 Introdução

A cadeia produtiva do leite é de extrema importância econômica e social. Segundo estatísticas, o Brasil ocupa o sexto lugar em termos de produção leiteira e o 21º em produtividade. O Estado do Paraná encontra-se em um lugar de destaque na cadeia leiteira nacional, terceiro lugar em produção com enfoque na região Oeste [1].

O leite é um dos alimentos mais completos, devido a seus valores nutritivos e energéticos e à sua composição físico-química. Há muito tempo o homem vem utilizando o leite de vaca como fonte de nutrientes importantes em sua dieta, contém cerca de 87% de água, 3,9% de gordura, 3,2% de proteínas, 4,6% de lactose e 0,9% de minerais e vitaminas [2].

As suas características físico-químicas determinam o valor nutritivo, o processamento industrial e a remuneração do produtor. A produção e a composição físico-química do leite variam, segundo diversos fatores, tais como: individualidade, raça, alimentação, estágio de lactação, idade, temperatura ambiental, estação do ano e vários fatores fisiológicos (gestação, ciclo estral, etc.), patológicos (mastite), persistência de lactação, tamanho da vaca, quartos mamários, porção da ordenha e intervalo entre ordenhas [3-5]. Adicionalmente, existem variações da composição do leite relacionadas à espécie produtora. O leite bovino possui teor de gordura semelhante ao do leite humano e esta também apresenta uma boa assimilação por parte do organismo, representando um importante componente nutricional [6].

O Leite Instável Não Ácido (LINA) caracteriza-se pela perda da estabilidade da caseína do leite ao teste do álcool, sem apresentar acidez acima de 18ºD. Esse fato causa significativos prejuízos econômico-financeiros a toda cadeia produtiva, pois o leite é rejeitado ou subvalorizado pela indústria, mesmo apresentando níveis de acidez considerados normais pelos padrões do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), sendo deixado, na maioria das vezes, na propriedade ru-

ral. Alterações dessa natureza foram relatadas pela literatura em diferentes regiões do mundo, como no Japão [7], na Itália [8], no Irã [9], em Cuba [10], e no Brasil [11–13]. No Brasil, a incidência do LINA ainda carece de diagnóstico devido à falta de trabalhos de pesquisa, sendo que a Embrapa Clima Temperado em parceria com a UFPEL, desde 2002, vêm estudando esse tema. As causas do LINA ainda não estão totalmente esclarecidas. Entretanto, o LINA é um problema multifatorial. Há indícios de que o padrão de proteína produzido possa ter importante influência na estabilidade do leite. Além disso, há citações da ação de microrganismos como causa da instabilidade.

O presente estudo faz parte de um Projeto de Pesquisa - Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) e suas implicações sobre a composição e as propriedades físico-químicas do leite cru produzido na região Oeste do Paraná – realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, com recursos da SETI/Fundação Araucária e do MCT/CNPq, e tem como objetivo levantar a porcentagem de ocorrência dessa anomalia (LINA) nas amostras avaliadas, assim como as consequências sob o ponto de vista da composição centesimal e propriedades físico-químicas.

2 Material e métodos

2.1 Coleta e transporte das amostras

Nos meses de dezembro de 2010 a março de 2011, foram coletadas amostras de leite cru diretamente de tanques de resfriamento pertencentes a produtores de leite em municípios localizados em cidades que compõem a região Oeste do Paraná, responsáveis pela produção média de 200.000L/dia e que fornecem leite para estabelecimentos processadores de leite da região Oeste. Ao total, foram coletadas 69 amostras de leite. As amostras foram coletadas pelos responsáveis pelo transporte de leite para os estabelecimentos processadores, que foram instruídos a previamente homogeneizarem a amostra, de forma a garantir a obtenção de uma amostra homogênea e que representasse as características reais do leite amostrado. Nos frascos destinados à determinação do conteúdo de células somáticas (CCS), foi adicionado a 50 mL de

amostra o conservante 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol. No outro frasco (200 mL), que continha amostras para determinação da composição centesimal e propriedades físico-químicas, não foram adicionados conservantes. Ambos os frascos foram transportados em caixas isotérmicas contendo gelo artificial até o laboratório de Laticínios, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Campus* Medianeira, no prazo máximo de 24 horas. Já na universidade, as amostras para determinação de CCS foram encaminhadas para o Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa – APCBRH, com o objetivo de que nesse local quantificassem o conteúdo de células somáticas. A outra amostra foi submetida à análise de composição centesimal e das propriedades físico-químicas, no Laboratório de Laticínios e de Análise de Alimentos da UTFPR, *Campus* Medianeira.

2.2 Análises da composição centesimal e das propriedades físico-químicas

As amostras de leite estável e de LINA foram submetidas às análises de composição centesimal e propriedades físico-químicas.

Nas análises de composição centesimal, foram determinados valores de: proteína, lactose, matéria gorda e extrato seco total, utilizando analisador ultrassônico de leite (Lactoscan[®], Milkotronic, Bulgária).

Quanto às propriedades físico-químicas, as avaliadas no estudo foram crioscopia (depressão do ponto de congelamento), utilizando o analisador ultrassônico de leite (Lactoscan[®], Milkotronic, Bulgária); o teste de acidez titulável, expressa em porcentagem de ácido láctico (m/v), e a estabilidade ao álcool nas concentrações de 68%, 70% e 80% (v/v), seguindo a metodologia disposta na Instrução Normativa n^o 68 [14].

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, com utilização do programa estatístico *Statistica*, versão 7.0 [15], para verificar diferenças estatisticamente significativas entre as médias das variáveis estudadas nas amostras de LINA e de leite estável, e como nível de significância adotou-se $\alpha = 0,05$.

2.3 Determinação do conteúdo de células somáticas

A análise de Contagem de Células Somáticas foi realizada a partir da leitura em equipamento de contagem eletrônica de células somáticas por citometria de fluxo, no equipamento Somacount 500[®], conforme metodologia IDF *Standard* 148:2 [16], cujo resultado foi expresso em x1000 cel/mL, no Laboratório Centralizado de Análise de Leite da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), em Curitiba-PR.

2.4 Caracterização do leite com instabilidade de caseína e leite normal

O leite LINA é uma anomalia caracterizada pela perda da estabilidade da caseína do leite ao teste do álcool, fazendo com que ele precipite mesmo sem apresentar caráter ácido (acima de 18°D). Para detectar a ocorrência desse leite instável dentre as amostras estudadas, elas foram submetidas ao teste da prova do álcool a 68%, 70% e 80% (v/v). A amostra com resultado positivo representado pela formação de grumos considera a caseína como instável. Para descartar leites com caseína instável devido à acidez adquirida ou à mastite, foram consideradas apenas as amostras com acidez entre 14°-18°D e CCS abaixo de $1,28 \times 10^6$ /mL. Foram consideradas amostras de leite normal aquelas que apresentaram acidez titulável entre 14 a 18°D e resultado negativo para o teste de álcool e CCS abaixo de $1,28 \times 10^6$ /mL [17].

Foi imposto como padrão para classificar as amostras os seguintes resultados:

- Alcalina: acidez < 14°D e estável ao álcool;
- Normal: acidez 14-18°D e estável ao álcool;
- Ácida: acidez > 18°D e instável ao álcool;
- LINA: acidez 14-18°D e instável ao álcool.

3 Resultados e discussão

Foram avaliadas 69 amostras de leite cru, onde 68,11% apresentaram anormalidade no quesito acidez, obtendo-se 16 amostras alcalinas e 8 de caráter ácido, sendo

que, somente, 22 amostras se adequaram aos parâmetros normais de acidez.

Levando-se em consideração os parâmetros para determinação de LINA, 33% (23) das amostras analisadas, foram consideradas positivas para essa anomalia. O valor encontrado neste trabalho foi superior ao encontrado por Oliveira *et al.* [18] ao avaliar a ocorrência de LINA no estado de São Paulo e inferior ao obtido por Marques *et al.* [19], ao avaliar na cidade de Pelotas (RS). De acordo com Zanela [20], a porcentagem de LINA pode variar em função dos meses e de acordo com a região em estudo, o que pode de certa forma explicar.

Com o objetivo de detectar diferenças na composição dos leites normais e LINA, foram feitas as análises de composição centesimal e propriedades físico-químicas de cada amostra. Nesse estudo, foram descartadas as amostras que apresentaram caráter alcalino e ácido. Para a comparação, foram analisados os teores de lipídeos, proteína, lactose, CCS, acidez titulável, crioscopia e extrato seco total das amostras de leite normal e LINA colhidas no período de verão, cujos resultados encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Comparação da composição centesimal e propriedade físico-química entre o leite normal e LINA

Parâmetros*	LEITE NORMAL ¹	LEITE LINA ²
Lipídios (%)	4,27±0,50	4,39±1,25
Proteínas (%)	3,11±0,24	3,10±0,25
Lactose (%)	4,67±0,37	4,62±0,37
CCS × 1000 (células/mL)	926±550	786±690
Acidez Titulável (% ácido láctico m/v)	0,1533±0,0067	0,1464± 0,0195
Crioscopia (°H)	-0,546±0,047	-0,542±0,048
Extrato Seco Total (%)	12,76 ± 1,09	12,91 ± 1,38

¹ Leite normal: acidez 14-18°D e estável ao álcool

² Leite Lina : acidez 14-18°D e instável ao álcool nas concentrações 68%, 70% e/ou 80% (v/v)

Conforme verificado na tabela 1, não houve diferença significativa entre as amostras consideradas como normais e LINA ($p > 0,05$) para os atributos avaliados, estando os valores determinados de acordo com a Instrução Normativa nº 51 [21].

Em relação aos valores obtidos para lipídios, similarmente ao encontrado por Zanela *et al.* [22], apesar de não ter havido diferença significativa entre as amos-

tras avaliadas, foi verificada uma tendência no aumento do teor de lipídios para leite LINA em relação ao leite normal. Por sua vez, Marques *et al.* [19] e Oliveira e Timm [23] encontraram valores significativamente superiores de lipídios para LINA quando comparado ao leite normal (LINA: 3,61% e leite normal: 3,52%; LINA: 3,30 e leite normal: 3,04, respectivamente). Comparativamente aos valores encontrados nos trabalhos acima citados, no presente estudo os teores de lipídios foram superiores. É sabido que o teor de lipídios no leite é dependente de inúmeros fatores, como tipo de alimentação, época do ano, estágio de lactação, etc., e é o componente que mais sofre variação no leite, o que pode, de certa forma, justificar os valores aqui encontrados [24].

Os valores de proteína determinados neste trabalho foram maiores do que os encontrados por Oliveira e Timm [23] (leite normal: 2,91 e LINA: 2,89), mas similares ao determinado por Lopes [25] no mês de maio (leite normal: 3,21 e LINA 3,18). Para ambos os autores, assim como nesta pesquisa, as amostras não diferiram significativamente para este atributo, sugerindo que no LINA não há alteração quantitativa na percentagem de proteína bruta. No entanto, é preciso ter cautela ao analisar simplesmente o percentual de proteína bruta do leite, uma vez que esse atributo pode estar associado a um aumento da fração nitrogenada não protéica, o que do ponto de vista produtivo, não seria interessante.

Quanto ao teor de lactose, valores significativamente maiores foram encontrados em leite normal (4,41%) quando comparado ao LINA (4,32%) por Marques *et al.* [19], diferentemente do determinado neste trabalho (Tabela 1).

Ao contrário dos trabalhos realizados por Marques *et al.* [19] (leite normal: 401.000 e LINA: 463000 CCS/ mL) e Lopes [25] (leite normal: 299.000 e LINA: 491000 CCS/ mL), as amostras consideradas LINA não diferiram estatisticamente das amostras consideradas normais (Tabela 1) e apresentaram-se superiores ao valor preconizado pela legislação vigente [14].

Quanto ao parâmetro acidez, expresso em ácido láctico % (m/v), apesar dos valores encontrados neste trabalho terem sido inferiores aos determinados por Lopes [25] e Oliveira *et al.* [18] também para esses autores não houve diferença significativa entre leite normal e LINA.

Para crioscopia, os valores aqui encontrados foram similares aos encontrados por Marques *et al.* [19] (leite normal e LINA: $-0,544^{\circ}\text{H}$). O fato de não ter apresentado diferença significativa entre leite normal e LINA, neste trabalho, pode ser devido ao fato de que os valores para acidez e lactose foram similares entre as amostras analisadas (Tabela 1), já que estes são, dentre os parâmetros avaliados, aqueles que mais influenciam no ponto de congelamento do leite [26].

No presente trabalho, não foi verificada diferenças entre o leite normal e LINA para sólidos totais, similarmente aos resultados obtidos por Lopes [25] e Oliveira *et al.* [18]. Por sua vez, Zanela *et al.* [22] verificou que o teor de sólidos totais foi maior para leite normal do que para LINA.

4 Conclusão

Das 69 amostras analisadas, 68,11% apresentaram anormalidade quanto o quesito acidez, sendo 23 amostras LINA (33%), 16 alcalinas e 8 amostras de caráter ácido, todas classificadas nos parâmetros citados no trabalho. Neste estudo, não foram detectadas diferenças significativas nos resultados obtidos estatisticamente entre o leite normal e LINA quanto à composição centesimal e propriedades físico-químicas, estando ambos de acordo com os parâmetros descritos na Instrução Normativa nº 51 [21].

5 Referências

- [1] PRODUÇÃO, INDUSTRIALIZAÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br>. Acesso em fev/2011.
- [2] HARDING, F. Compositional quality: milk quality. Glasgow: Blackie Academic Professional, 1995, 165p.
- [3] COSTA, F. M. A.; D'ALESSANDRO, W. T.; CARVALHO, A. L.; ROCHA, J. M.; TANEZINI, C. A.; PONTES, I. S.; FERREIRA, M. L.; SOTÉRIO, N. M. F. Variação do teor de gordura no leite bovino cru. *Pesqui Agropecu Bras*, v. 27, n. 5, p. 763–769, 1992.

- [4] WEISS, D.; HILGER, M.; MEYER, H. H. D.; BRUCKMAIER, R. M. Variable milking intervals and milk composition. *Milchwissenschaft*, v. 57, n. 5, p. 246–249, 2002.
- [5] WALDNER, D. N.; STOKES, S. R.; JORDAN, E. R.; LOOPER, M. L. Managing milk composition: normal sources of variation. *Oklahoma Cooperative Extension Service ANSI-4016*, Disponível em <http://www.osuextra.com> . Acesso em set/2010.
- [6] ROSENTHAL, I. Milk and dairy products. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 1991, 217p.
- [7] YOSHIDA, S. Studies in the Utrecht abnormality of milk in the Miyuki Dairy Farm. *J Jap Appl Biol Sci Hir Univ*, v. 19, p. 39–54, 1980.
- [8] PECORARI, M.; FPSSA, E.; AVANZINI, G.; MARIAN, P. Milk with abnormal coagulation: acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. *Sci Tec Latt Cas*, v. 35, n. 4, p. 263–278, 1984.
- [9] SOBHANI, S.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. *J Anim Sci*, v. 80, Suppl. 1, p. 58, 1998.
- [10] PONCE CEBALLO, P.; AGUILERA, G. P. Síndrome de leche anormal: Un enfoque integral sobre las alteraciones em lãs características físico-químicas de la leche en las condiciones de Cuba. In: I Conferência de Internacional sobre Leite Instável. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.
- [11] CONCEIÇÃO, R. C. S.; MARQUES, L. T.; GANDRA, E. A.; *et al.* Correlação entre as provas do álcool e da acidez titulável para amostras de leite com Síndrome do Leite Anormal (SILA). In: Anais do Congresso de Iniciação Científica, 10, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2001.
- [12] MARQUES, L. T. Ocorrência do Leite Instável não Ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004, 68 p.

- [13] ZANELA, M. B. Caracterização do Leite Produzido no Rio Grande do Sul, Ocorrência e Indução Experimental do Leite Instável Não Ácido (LINA). Tese de Doutorado, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel, Pelotas, 2004.
- [14] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado. Publicado no Diário Oficial da União em 20 de setembro de 2002.
- [15] STATSOFT, Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7.0.
- [16] IDF. International IDF Standard 148-2. Milk – Enumeration of somatic cell. Brussels, 2006, 8 f.
- [17] OLIVEIRA, M. D. S.; MORAES, C. M.; ROOS, T. B.; BERMUDEZ, R. F.; TIMM, C. D. Ocorrência de leite com instabilidade da caseína em Santa Vitória do Palmar, RS. *Rev Bras Cien Vet*, v. 14, n. 2, p. 101–104, 2007.
- [18] 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. *Rev Bras Saúde Prod An*, v.12, n. 2, p. 508–515, 2011.
- [19] MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JR, W.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. *R Bras Agrociência*, v. 13, n. 1, p. 91–97, 2007.
- [20] ZANELA, M. B.; MACHADO, S. C. Incidência de Leite Instável Não Ácido (LINA) no RS, Brasil. In: I Conferência de Internacional sobre Leite Instável. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

- [21] BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 (D.O.U. 18/09/2003). Dispõe sobre os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.
- [22] 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. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v. 61, n. 4, p. 1009–1013, 2009.
- [23] OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. *Ciencia Tecnol Alime*, v. 26, n. 2, p. 259–263, 2006.
- [24] FRUSCALSO, V. Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência de Leite Instável Não Ácido. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007, 147 p.
- [25] LOPES, L. C. Composição e características físico-químicas do Leite Instável Não Ácido (LINA) na região da Casa Branca, estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008, 64 p.
- [26] SANTOS, M. V. D.; FONSECA, L. F. L. D. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. São Paulo: Manole, 1^a ed., 2007.