

## Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil

*Composition and physical-chemical characteristics of unstable non-acid milk received in a dairy plant of the State of São Paulo, Brazil*

OLIVEIRA, Carlos Augusto Fernandes de<sup>1\*</sup>; LOPES, Ludmila Camargo<sup>1</sup>; FRANCO, Raquel Cardoso<sup>1</sup>; CORASSIN, Carlos Humberto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

\*Endereço para correspondência: carlosaf@usp.br

### RESUMO

Neste estudo, objetivou-se determinar a ocorrência, composição, características físico-químicas e contagem de células somáticas de leites identificados como leite instável não ácido recebido em laticínio localizado na região nordeste do Estado de São Paulo. A amostragem abrangeu todas as propriedades leiteiras fornecedoras de leite para o laticínio, e foi realizada nos períodos chuvoso e seco do ano de 2007. Para a identificação de leite instável não ácido, considerou-se a amostra de leite de conjunto de cada propriedade que apresentasse instabilidade à prova do álcool a 72% (v/v) e acidez titulável inferior a 18°D. Do total de amostras instáveis à prova do álcool a 72% (v/v), 64,8% foram identificadas como leite instável não ácido. A ocorrência de leite instável não ácido variou de acordo com a época da amostragem, o que indica uma influência sazonal sobre a ocorrência desse problema nos rebanhos analisados. No período seco, a ocorrência de leite instável não ácido foi maior, e coincidiu com a época na qual a disponibilidade de forragens de boa qualidade é reduzida devido à redução no volume das chuvas. No período seco observaram-se também maiores níveis de gordura e contagem de células somáticas, paralelamente a uma diminuição nas concentrações de proteína total e lactose. Os resultados evidenciaram que a ocorrência de leite instável não ácido é frequente nos rebanhos leiteiros da região estudada, sofre influência sazonal e está associada a alterações na composição do leite, o que pode ocasionar perdas significativas à indústria de laticínios e aos produtores de leite.

**Palavras-chave:** leite anormal, LINA, teste do álcool

### SUMMARY

The objective of this study was to determine the occurrence, composition, physical-chemical characteristics and somatic cell count of milks identified as unstable non acid received in a dairy plant located in the Northeast region of São Paulo state. The sampling covered all dairy farms that provide milk to the dairy plant, during the rainy season and dry season of 2007. For the identification of unstable non acid milks, it was considered the bulked milk sample from each farm that showed instability to the ethanol test at 72% (v/v) and acidity less than 18° D. From the total samples unstable to ethanol at 72% (v/v), 64.8% were identified as unstable non acid milk. The occurrence of unstable non acid varied according to sampling period, indicating a seasonal influence on the occurrence of this problem in the herds analyzed. In the dry season, the occurrence of unstable non acid was higher, coinciding with the period in which the availability of good quality pasture is reduced due to reduction in the volume of rainfall. Also in the dry period, there were greater levels of fat and somatic cell count, along with a decrease in the concentrations of total protein and lactose. Results of this trial showed that the occurrence of unstable non acid is frequent in the dairy herds of the region studied, is influenced by seasonal variations and is associated to changes in milk composition, which may cause significant losses to the dairy industry and dairy farmers.

**Keywords:** abnormal milk, alcohol test, unstable milk

## INTRODUÇÃO

A prova do álcool é o principal teste realizado nas plataformas de recepção dos laticínios e visa à verificação da estabilidade térmica do leite cru. De acordo com as normas do Ministério da Agricultura, a prova do álcool deve ser realizada em concentrações entre 68-72% (v/v) - (BRASIL, 1981).

O leite instável não ácido (LINA) é definido como o produto que apresenta perda da estabilidade da caseína do leite ao teste do álcool, sem apresentar acidez. Esta ocorrência causa significativos prejuízos a toda cadeia produtiva, pois o leite é rejeitado ou subvalorizado pela indústria, mesmo que este apresente níveis de acidez considerados normais pelos padrões do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (ROMA et al., 2009).

O fenômeno tem causa multifatorial, associada a transtornos fisiológicos metabólicos e/ou nutricionais, com implicações nos mecanismos de síntese e secreção lácteas (MARQUES et al., 2007; ZANELA et al., 2009). Entre os fatores de maior importância, destacam-se os desequilíbrios em energia e proteína associados às características da dieta, com implicações no ambiente ruminal e comprometimento do metabolismo geral (acidose). A ocorrência de leite instável não ácido é maior em bovinos com alto potencial genético ou em épocas de estresse nutricional e/ou calórico (ZANELA et al., 2006).

Alterações dessa natureza já foram relatadas em diferentes regiões do mundo, como Irã (SOBHANI et al., 1998), Uruguai (BARROS et al., 1999) e Brasil (DONATELE, et al., 2003; ZANELA, 2006; MARQUES et al., 2007).

Com relação à composição do leite, estudos citam diferenças nos

componentes do leite instável não ácido em relação ao leite estável, como maiores níveis de gordura e menores níveis de lactose (BARROS et al., 1999; OLIVEIRA & TIMM, 2006; MARQUES et al., 2007). No entanto, em relação aos teores de proteína no leite instável não ácido, os dados são controversos. Alguns autores afirmam que não há diferenças (SOBHANI et al.; 1998; OLIVEIRA & TIMM, 2006), enquanto que outros observaram menores concentrações deste componente no leite instável não ácido em relação ao leite estável (BARROS et al., 1999; MARQUES et al., 2007). Com base nesses aspectos, objetivou-se com o presente trabalho, determinar a ocorrência de leites de conjuntos identificados como leite instável não ácido e de leites estáveis à prova do álcool, bem como determinar suas características físico-químicas e contagem de células somáticas.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite foram colhidas em propriedades leiteiras fornecedoras para usina de beneficiamento de leite localizada na região nordeste do Estado de São Paulo, cujo volume médio de leite captado é de aproximadamente 40.000 L/dia. Esta empresa conta com cerca de 100 produtores, e realiza coleta de leite totalmente granelizada através de caminhões isotérmicos.

As amostragens mensais foram realizadas no momento da coleta de leite em cada propriedade leiteira, em 2 períodos: chuvoso (1ª quinzena de março à 1ª quinzena de maio) e seco (2ª quinzena de junho à 1ª quinzena de setembro) de 2007. As amostragens contemplaram todos os produtores fornecedores de leite do laticínio, o que

totalizou 451 amostras de leite coletadas durante todo o experimento, sendo 217 no período chuvoso e 234 no período seco.

O leite de cada propriedade foi colhido diretamente do tanque de expansão em frascos com capacidade de 200mL, identificados e conservados com pastilhas de Bronopol®. Os frascos foram acondicionados em caixas isotérmicas e transportados imediatamente para o laboratório, para realização das análises.

O teste do álcool foi realizado pela adição em placa de Petri de 4mL de leite e 4mL da solução de álcool etílico nas concentrações de 72, 74, 76 e 78 (v/v), seguido de leve agitação. A interpretação do resultado foi efetuada imediatamente após a agitação. As amostras que apresentaram formação de grumos e/ou coágulos ao serem testadas na prova do álcool a 72% (v/v) foram submetidas ao teste de acidez titulável (BRASIL, 1981), e foram consideradas como leite instável não ácido aquelas que apresentaram acidez entre 14 e 18°D. Adicionalmente, considerou-se como leite estável as amostras que apresentaram resultado negativo (ausência de grumos ou coágulos) diante da prova do álcool a 78% (v/v) e acidez titulável entre 14 e 18°D.

Todas as amostras de leite identificadas como leite instável não ácido ou leite estável foram submetidas à análise de pH e determinação dos percentuais de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado, os quais foram obtidos em analisador automático (Lactoscan, Milkotronic, Bulgária). A contagem de células somáticas foi realizada pelo método de citometria de fluxo em contador eletrônico de células somáticas (*Bentley Instruments*, EUA).

Os dados foram arranjados em um delineamento inteiramente casualizado, com dois tipos de leite (LINA e estável)

analisados separadamente nos períodos de seca e chuvoso. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, com utilização dos procedimentos do *General Linear Model* do SAS® (SAS Institute, 2004), 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  $\alpha = 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de amostras que apresentaram positividade diante da prova do álcool a 72% (Figura 1) foram relativamente altos, (36,18 e 41,90% nos períodos chuvoso e seco, respectivamente). Esta ocorrência pode estar normalmente associada à alta concentração de microrganismos mesófilos no leite, no caso de ter ocorrido falha no sistema de refrigeração do leite nas propriedades, o que leva ao aumento da acidez do leite (CHAVEZ et al., 2004). Em ambientes propícios, os microrganismos mesófilos fermentam a lactose, induz a produção ácido lático e assim gera a acidez do leite. O leite com proteína instável é caracterizado pela perda da estabilidade da caseína, o que resulta em precipitação na prova do álcool sem, entretanto, haver acidez elevada do leite. Ressalte-se, que segundo as normas do Ministério da Agricultura, a prova do álcool deve ser realizada em concentrações entre 68-72% (v/v) (BRASIL, 1981), porém, sabe-se que diversas indústrias receptoras de leite realizam tal teste em concentrações superiores a esta (MARQUES et al., 2007). Os percentuais de amostras estáveis à prova do álcool a 78% (v/v),

ou seja, que não apresentaram coagulação foram 21,3% e 13,9%, respectivamente para os períodos

chuvoso e seco. Não houve aumento do número de amostras positivas com o aumento da concentração do álcool.

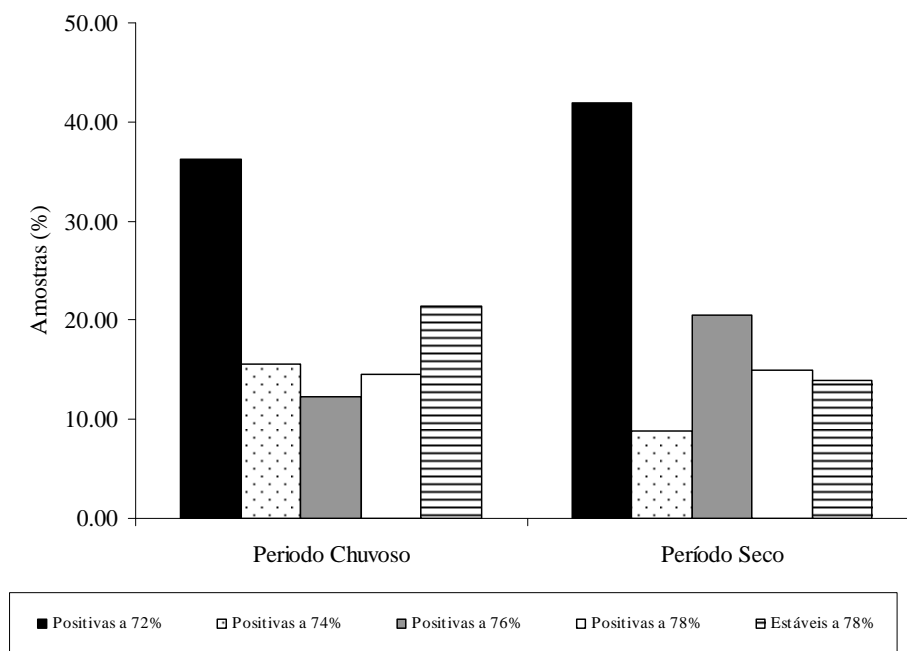


Figura 1. Resultados da prova do álcool em diferentes percentuais (v/v) e períodos de realização da análise. n = 451

Ao se considerar o total de amostras positivas ao teste do álcool 72% (v/v), pode-se observar que 64,8% foram classificadas como leite instável não ácido (Figura 2), enquanto que 35,2% foram identificadas como leite ácido (acidez titulável superior a 18<sup>o</sup>D). Diante dos resultados encontrados, observa-se que grande parte do leite coletado poderia ser erroneamente classificada como ácido, o que levaria consequentemente a prejuízos econômicos tanto ao produtor quanto à indústria, devido à rejeição ou subvalorização do produto, mesmo com os níveis de acidez considerados normais pelos padrões do Ministério da Agricultura (ROMA. et al., 2009), portanto, é necessário que o Ministério da Agricultura estabeleça regras para

que as indústrias evitem estas distorções. Os resultados descritos neste experimento, que demonstram a grande incidência de LINA, são semelhantes aos obtidos por Barros et al. (1999), Donatele et al. (2003), Zanela et al. (2006), Oliveira & Timm (2006) e Marques et al. (2007) em diferentes regiões do Brasil e do mundo.

As porcentagens de positividade ao teste do álcool nos diferentes períodos (Figura 2) indicam a maior ocorrência de leite instável não ácido no período seco. Inversamente, no período chuvoso, houve maior ocorrência de amostras de leite com acidez elevada. Estas variações podem ser explicadas pelo fato de que no período seco, fase de maior ocorrência de leite instável não ácido obtida neste estudo, ocorre a estacionalidade

na produção de pastagens, que decorre principalmente da redução da temperatura, radiação solar e da precipitação pluvial (CUNHA et al., 2007). Durante o período seco, os produtores de leite avaliados no presente trabalho mantêm seus rebanhos predominantemente em regime de pastejo, de modo que os animais têm acesso a uma pastagem de baixa qualidade nutricional. Embora no presente trabalho não tenha sido verificado o manejo nutricional dos rebanhos analisados, sabe-se que muitos produtores utilizam o recurso de fornecimento de concentrados energéticos e proteicos para complementação das necessidades nutricionais do rebanho leiteiro, na tentativa da manutenção da produção leiteira. Assim, a combinação entre forragens de baixa qualidade nutricional e uso de concentrados de forma desbalanceada ocasiona

desequilíbrios energéticos e/ou proteicos da dieta, o que compromete o metabolismo ruminal e altera a composição do leite (AGENAS et al., 2003, CORASSIN, et al., 2004). Okada et al. (2001) corroboram esta hipótese ao concluírem que resultados positivos para leite instável não ácido estão associados à insuficiência de nutrientes digestíveis totais fornecidos na dieta. Comportamento semelhante foi observado na Argentina por Chavez et al. (2004), que verificaram maior frequência de LINA nos últimos meses do período seco, período associado à baixa disponibilidade de pastos e forragens de qualidade, além do incremento relativo no fornecimento e consumo de concentrados. Zanella et al. (2009) também associaram a restrição alimentar à ocorrência de leite instável não ácido.

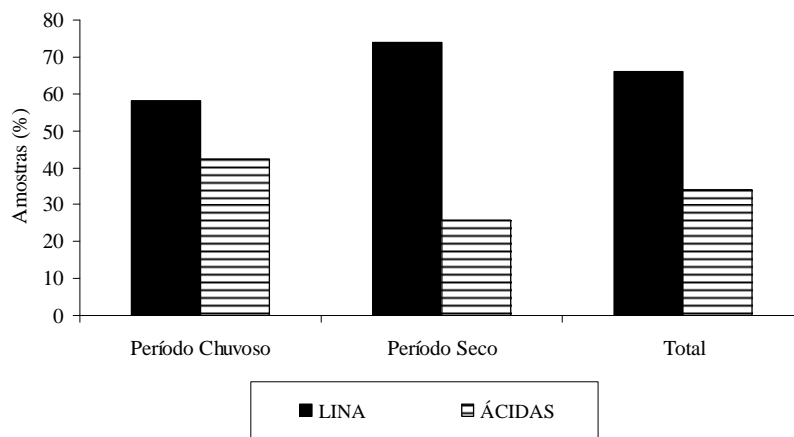


Figura 2. Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) e de amostras ácidas em relação às amostras positivas ao teste do álcool a 72% (v/v) em diferentes períodos. n = 176

A acidez não apresentou diferenças significativas entre os dois tipos de leite, independentemente do período avaliado, com média obtida de 16,8°D

(Tabela 1). Este valor está dentro do padrão estabelecido pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 1981), que

considera como normais valores de acidez entre 14-18°D.

Em relação à composição do leite (Tabela 1), durante o período seco, as concentrações médias de gordura e a contagem de células somáticas foram significativamente maiores ( $P<0,05$ ) no leite instável não ácido. Em contrapartida, as concentrações médias de proteína e lactose foram maiores ( $P<0,05$ ) no leite estável. Durante

o período chuvoso foi observado comportamento semelhante em relação ao leite instável não ácido, sendo que as concentrações médias de gordura e a contagem de células somáticas foram superiores ( $P<0,05$ ) às do leite estável. A porcentagem de sólidos totais nos leites instáveis e estáveis não apresentou diferenças significativas ( $P>0,05$ ) nos períodos analisados.

Tabela 1. Acidez, composição e contagem de células somáticas (CCS) dos leites instáveis não ácidos (LINA) e leites estáveis à prova do álcool a 78% (v/v)

Período	Acidez (°D)	Proteína (%)	Gordura (%)	Lactose (%)	Sólidos totais (%)	CCS (x1000 CS/ml)
Seco <sup>1</sup> :						
LINA	17,1±0,1	3,08 <sup>b</sup> ±0,04	3,67 <sup>a</sup> ±0,11	4,37 <sup>b</sup> ±0,04	11,93±0,12	413,4 <sup>a</sup> ±61,4
Estável	17,0±0,1	3,16 <sup>a</sup> ±0,05	3,37 <sup>b</sup> ±0,14	4,45 <sup>a</sup> ±0,05	11,83±0,16	292,8 <sup>b</sup> ±80,6
Chuvoso <sup>2</sup> :						
LINA	16,5±0,1	3,03±0,03	3,87 <sup>a</sup> ±0,18	4,34±0,04	12,32±0,18	567,5 <sup>a</sup> ±73,0
Estável	16,6±0,4	3,02±0,05	3,66 <sup>b</sup> ±0,27	4,35±0,07	12,19±0,28	306,4 <sup>b</sup> ±110,0

<sup>1</sup>Meses de março a maio, <sup>2</sup>Meses de junho a setembro.

<sup>a,b</sup>Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna em cada período (seco ou chuvoso) são estatisticamente diferentes pela Análise de Variância ( $P<0,05$ ).

As diferenças nas concentrações médias de gordura e proteína podem estar associadas às alterações nas concentrações dos ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen, causada por variações na ingestão de volumosos ou devido a alterações na proporção concentrado: volumoso (AGENAS et al., 2003). Deste modo, o aumento de volumosos leva a aumento na concentração de ácido acético, principal precursor da gordura no leite, e a decréscimo na concentração de ácido propiônico, precursor da lactose, cuja diminuição é geralmente acompanhada de decréscimo dos demais componentes do leite (CORASSIN et al., 2004).

Em relação às concentrações médias da lactose, existe um consenso entre diversos autores de que o LINA apresenta teores mais baixos de lactose e que isto é associado ao grau de subnutrição a que o animal é submetido (SOBHANI et al. 1998; BARROS, 1999; MARQUES et al., 2007). Os dados de composição obtidos no presente trabalho são semelhantes aos resultados obtidos em outros estudos sobre LINA (BARROS et al., 1999; ZANELA et al., 2009, OLIVEIRA & TIMM, 2006 e MARQUES et al, 2007), os quais reforçam que não há justificativa para a rejeição do leite instável não ácido pelas indústrias ou a penalização dos produtores que



fornecerem este tipo de amostra, pois todos os valores de composição obtidos são considerados normais para animais criados em regime de pastejo (CORASSIN et al. 2004; ZANELA et al, 2006), e de acordo com as exigências da Instrução Normativa 51 (MAPA, 2002).

A contagem de células somáticas foi significativamente superior ( $P < 0,05$ ) no leite instável não ácido, quando comparada com o valor médio obtido para o leite estável, independentemente da época do ano, o que é consistente com a redução na concentração média de proteína e lactose (AULDIST & HUBBLE, 1998). Marques et al. (2007) obtiveram diferenças significativas entre as amostras estáveis e as de leite instável não ácido. Estes resultados diferem dos valores obtidos por Donatele et al. (2001) e Zanela et al. (2006), que não encontraram relação entre leite positivo ao álcool e alta contagem de células somáticas.

O leite instável não ácido apresenta menores teores de proteína bruta e lactose no período seco quando comparado ao leite estável à prova do álcool a 78% (v/v). Entretanto, o percentual de gordura e a contagem de células somáticas são maiores no leite instável não ácido, independentemente do período do ano. Conclui-se que a ocorrência do leite instável não ácido em propriedades leiteiras da região nordeste do Estado de São Paulo é elevada, e apresenta variação sazonal, com maior incidência no período de seca.

## REFERÊNCIAS

AGENÄS, S.; DAHLBORN, K.; HOLTENIUS, K. Changes in metabolism and milk production during and after feed deprivation in primiparous cows selected for different milk fat content. **Livestock Production Science**, v.83, p.153-164, 2003.

AULDIST, M.J.; HUBBLE, I.B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Australian Journal of Dairy Technology**, v.53, p.28-36, 1998.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos**. Brasília, 1981. p.25.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RIISPOA**. Brasília, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa nº 51**. Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. Brasília, 2002.

CHAVEZ, M.S.; NEGRI, L.M.; TAVERNA, M.A.; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal Dairy Research**, v.71, p.201-206, 2004.

CORASSIN, C.H.; MACHADO, P.F.; COLDEBELLA, A.; CASSOLI, L.D.; SORIANO, S. Avaliação de ferramentas utilizadas no balanceamento de dietas completas para vacas em lactação. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.26, p.241 - 249, 2004.

CUNHA, F.F.; SOARES, A.A.; PEREIRA, O.G.; LAMBERTUCCI, D.M.; ABREU, F.V.S. Características morfogênicas e perfilhamento do *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia irrigado. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.3, p.628-635, 2007.

DONATELE, D.; VIEIRA, L.; FOLLY, M. Relação do teste de alizarol a 72% (v/v) em leite “in natura” de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. **Higiene Alimentar**, v.17, p.95-100, 2003.

MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF, W.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.1, p.91-97, 2007.

OKADA, K.; SHIGA, A.; FUKAYA, A.; SAGAWA, K.; NAKAMOTO, T.; OGAWA, A.; FURUKAWA, T.; HIRATA, T.; SHIROTO, A.; NAITO, Y. Changes in quantity, components and properties of postpartum milk in Japanese black cows. **Journal of Japanese Veterinary Association**, v.54, p.185-190, 2001.

OLIVEIRA, D.S.; TIMM, C.D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.26, n.2, p.259-263, 2006.

ROMA, JÚNIOR, L.C.; MONTOYA, J.F.G.; MARTINS, T.T.; MACHADO, P.F. Sazonalidade da proteína e outros componentes do leite e sua relação com programas de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.1411-1418, 2009.

STATISCAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. **User’s Guide: statistics**. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2004.

SOBHANI, S.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.85, p.58, 1998. Suppl. 1

ZANELA, M.B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; BARBOSA, R.S.; MARQUES, L.T.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELA, C. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.1 – 11, 2006.

ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; FISCHER, V.; GOMES, J.F.; STUMPF JÚNIOR, W. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.1009-1013, 2009.

Data de recebimento: 19/05/2010

Data de aprovação: 06/05/2011