

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE NORMAL E DO LEITE INSTÁVEL  
NÃO ÁCIDO (LINA)

ALANA CIPRANDI

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE NORMAL E DO LEITE INSTÁVEL  
NÃO ÁCIDO (LINA)

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do grau de mestre em Ciências  
Veterinárias na área de Medicina Veterinária  
Preventiva

Orientadora: Profa. Dra. Andrea Troller Pinto

Porto Alegre

2014

CIP - Catalogação na Publicação

Ciprandi, Alana

Caracterização físico-química do leite normal e do leite instável não ácido (LINA) / Alana Ciprandi. -- 2014.

64 f.

Orientadora: Andrea Troller Pinto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Leite. 2. Estabilidade. 3. Características físico-químicas. I. Pinto, Andrea Troller, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Alana Ciprandi

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE NORMAL E DO LEITE INSTÁVEL  
NÃO ÁCIDO (LINA)

Aprovada em 14 de março de 2014.

APROVADA POR:

---

Profa. Dra. Andrea Troller Pinto  
Orientadora e Presidente da Banca

---

Livia Cavaletti Correa da Silva  
Membro da banca

---

Luciana Ruschel dos Santos  
Membro da banca

---

Verônica Schmidt  
Membro da banca

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar aos meus pais, Carlos e Ivani, que sempre me incentivaram, acreditaram em mim, e não me deixaram baixar a cabeça e desistir jamais, meu amor por vocês é o meu combustível.

Agradeço a minha orientadora profa. Dra. Andrea Troller Pinto, que abriu os braços, as portas e o coração assim que me ouviu falar sobre o desejo de trabalhar e aprender com ela, despertando minha vontade de poder fazer o mesmo por outras pessoas.

Agradeço a minha irmã Amanda por ter me ajudado durante o experimento, além de passarmos noites lavando vidraria, estava comigo nas horas de aflição e preocupação, sempre me acalmando e tentando ajudar de todas as maneiras, estarei sempre aqui quando precisar.

Agradeço ao meu namorado Jeferson pela paciência e apoio, pela compreensão de que o computador precisava mais da minha atenção no momento, e também por me ajudar sempre prontamente quando eu precisasse, abdicando de seus afazeres.

Agradeço as minhas amigas e companheiras de casa e de vida, Rita Cássia, Virgínia e Alessandra, por tudo que uma amizade verdadeira proporciona, um porto seguro nas horas difíceis e momentos muito felizes nas vitórias, companheirismo que torna a vida mais leve e tranquila.

Agradeço a colega Luisa, que teve toda a paciência de me ensinar o que sabia, me acolhendo com toda a empatia e simpatia. Agradeço também a Joana que estava sempre de prontidão a ajudar quem precisasse no laboratório, com toda a agilidade e carinho que lhe são tão marcantes.

Agradeço a todos os estagiários e colegas de LEITECIA, pela contribuição, por serem prestativos seja qual fosse a “maluquice”, pelas palavras, apoio e amizade, tenho certeza que terão muito sucesso.

Agradeço a todos os professores que tive desde que entrei na pré-escola com 5 anos, em especial aos meus professores de graduação da UPF, que me ensinaram principalmente a amar a minha profissão.



## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar a ocorrência de leite instável não ácido (LINA), e as características físico-químicas do leite com diferentes graus de estabilidade ao etanol. As coletas foram realizadas no período de janeiro a março de 2013, em um laticínio localizado ao norte do Estado do Rio Grande do Sul. Coletou-se um total de 651 amostras de leite cru, diretamente dos reservatórios dos caminhões na plataforma de recebimento na indústria. As amostras foram armazenadas em temperatura de refrigeração, e foram analisadas em no máximo 6 horas. Foi determinada a composição centesimal das amostras e em seguida, estas foram submetidas às análises físico-químicas de estabilidade ao etanol, pH, capacidade de tamponamento, acidez titulável, fervura e crioscopia. Os resultados obtidos foram utilizados para avaliar as diferenças entre Leite Instável Não-Ácido (LINA) e leite normal, após a estratificação das amostras de leite em dois grupos: LINA (instável ao etanol 72°GL com acidez titulável entre 14 e 18°D) e leite normal (estável na presença de etanol 72°GL e acidez entre 14 e 18°D). As amostras que não se enquadraram nestes 2 grupos foram desconsideradas. Das 592 amostras analisadas, 361 (60,98%) foram classificadas como LINA e 231 (39,02%) como leite normal. Para avaliar o leite com diferentes graus de estabilidade ao etanol, as amostras foram estratificadas em três categorias (estável ao álcool com concentração igual ou menor que 70°GL; entre 72 e 76°GL; e maior que 78°GL). Para ambas as estratificações das amostras, os parâmetros físico-químicos foram testados estatisticamente pelo teste de *Kruskal-Wallis*, o qual indica se há diferenças estatísticas nos resultados de cada análise entre os grupos. Com os resultados obtidos pode-se concluir que a incidência de LINA na região é elevada (60,97%); e que este leite apresentou estabilidade no teste de fervura, provando a ineficiência de se utilizar somente o teste do etanol para prever a estabilidade térmica das proteínas. Os valores de temperatura e acidez foram maiores em leites instáveis, já a estabilidade ao etanol e o pH se mostrou maior em leites mais estáveis. A capacidade de tamponamento não se mostrou diferente entre os grupos. A composição de sólidos foi maior em leites instáveis, com maior teor de ESD, gordura e proteína. As porções de lactose e os resultados de crioscopia, não apresentaram diferença significativa entre os estratos.

**Palavras-chave:** Leite, estabilidade, características físico-químicas.

## ABSTRACT

### ***Physical-chemical characterization of normal milk and unstable non-acid milk (UNAM)***

*The objective of this study was to determine the occurrence and the physicochemical characteristics of milk with different stabilities to ethanol . The collections were made in the period of January to March 2013 in a dairy located in the north of the State of Rio Grande do Sul. It was collected from a total of 651 samples of raw milk (about 150 ml of milk each sample) , which were collected directly from the tanks of trucks on the receiving platform in the industry . The samples were stored at refrigerator temperature and analyzed in the maximum of 6 hours from the collection. The proximate composition of the samples was determined and then they were subjected to the following physico-chemical analysis : stability to ethanol , pH , buffering capacity, titratable acidity , boiling and freezing point. The results were used to: (1) to assess the differences between unstable non-acid milk (UNAM), normal milk , and when the milk samples were stratified into two groups: UNAM ( clot by mixing equal amount of 72° GL ethanol and milk and titratable acidity between 14 and 18 ° D ) and regular milk ( stable in the presence of ethanol and acidity between 14 and 18 ° D ). The remaining samples not classified in these 2 groups were disregarded. Of the 592 samples analyzed, 361 (60.98%) were classified as UNAM and 231 (39.02%) as normal milk. For stability tests to ethanol , pH and acidity and fat, protein and solids nonfat , a significant difference (  $p < 0.05$  ) was found by Kruskal wallis test between UNAM and normal milk, with UNAM presenting the higher values There was no difference (  $p > 0.05$ ) for the buffering capacity, freezing point and the amount of lactose. From the obtained results it can be concluded that the incidence of UNAM in the region is high, and that this milk was stable in the boiling test, proving the inefficiency of using only this test to predict the thermal stability of proteins. (2) evaluate the milk differences degrees of stability to ethanol. Milk samples were stratified with respect to the stability of the ethanol in 3 categories (stable to alcohol with concentration equal to or smaller than 70 ° GL , between 72 and 76° GL and greater than 78° GL). Of the total samples tested , 398 (61.14%) samples proved unstable at 72 ° GL alcohol and of these, 6 had acidity above 18°D , making in this way , 392 (60.21%) milk samples characterized as unstable no acid (UNAM). By Kruskal-Wallis test , titratable acidity, pH and temperature on reception showed significant differences (  $p < 0.05$ ) between groups 1 against groups 2 and 3, the amount of fat , protein and solids nonfat varied significantly between all groups (  $p < 0.05$  ), whereas there was no such difference in buffering capacity. Lactose and cryoscopic index were considered statistically equal between groups 1 and 2 (  $p > 0.05$ ) and different for group 3 (  $p < 0.05$ ). With the results, we can conclude that there is a high incidence of UNAM in the region studied and that this milk showed no coagulation test in boiling , demonstrating the inefficiency of this test as an indicator of thermal stability.*

**Keywords:** *milk, stability, physical-chemical characterization.*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>13</b>
2.1 O AGRONEGÓCIO LEITEIRO	13
2.2 CADEIA PRODUTIVA E QUALIDADE DO LEITE	14
2.2.1 <i>Composição e características físico-químicas do leite</i>	15
2.2.2 <i>Características do leite instável não-ácido (LINA)</i>	20
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
3.1 OBJETIVO GERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>24</b>
4.1 AMOSTRAS	24
4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	25
4.2.1 <i>Estabilidade ao etanol</i>	25
4.2.2 <i>pH e capacidade de tamponamento</i>	26
4.3 CARACTERIZAÇÃO DO LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)	26
4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	26
<b>5. ARTIGO 1</b>	<b>28</b>
<b>6. ARTIGO 2</b>	<b>42</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>59</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento de absoluta importância do ponto de vista nutricional, e há séculos acompanha o desenvolvimento da humanidade. Com a domesticação do gado, há 11 mil anos antes de Cristo, o consumo humano de leite de origem animal se iniciou, com a vaca sendo o primeiro animal a ser domesticado para a produção leiteira.

No Brasil a bovinocultura foi introduzida com o propósito de força de trabalho, as primeiras cabeças de gado chegaram em 1534, até que, em meados de 1550, os chamados “carros de bois” foram o principal meio de transporte no interior do país, até a implantação das estradas de ferro. Posteriormente a produção de gado de corte foi desenvolvida nas regiões de Goiás e do sul do Brasil. Após várias transformações na economia agrícola, principalmente relacionadas ao café, a atividade leiteira surgiu como uma nova oportunidade.

Desde então, são desenvolvidas tecnologias para o beneficiamento e otimização dos processos industriais de leite, que foram estimulados principalmente pela versatilidade do ponto de vista físico-químico dessa matéria prima, exibindo uma gama de técnicas para novos produtos, além de garantir a segurança dos alimentos.

Infelizmente, no Brasil, a tecnologia disponível nas indústrias não é acompanhada, na mesma proporção, pelo setor primário. Além da alta competitividade das empresas em busca de leite, pois a oferta não atende à demanda do setor, o maior entrave enfrentado é a falta de qualidade. Apesar dos esforços dispensados pelos setores que regulamentam a atividade, a qualidade ainda é o maior ponto de estrangulamento, grande parte em virtude das dificuldades encontradas no campo, que no Brasil se caracterizam por pequenas propriedades rurais, com falta de mão de obra especializada, tecnologia e pouca visão de empreendedorismo dos atores, que os leva a não dispensar os investimentos necessários ao progresso do agronegócio leiteiro.

Além dos fatores normais de deficiência da qualidade, como as altas contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS), são encontrados problemas

relacionados à estabilidade térmica do leite, questão que vem sendo levantada e discutida em todo o mundo, já que o uso de tratamento térmico é parte imprescindível do processo de industrialização. Como método de avaliação da estabilidade térmica do leite se utiliza o teste de estabilidade ao etanol, que conforme exigência da legislação brasileira, deve ter graduação mínima de etanol 72°GL (BRASIL, 2011). No entanto, em busca de leites com melhor estabilidade térmica, as indústrias têm exigido como critério de aceitação, leites estáveis ao etanol 76°GL, ou ainda acima deste.

É comum o setor laticinista aplicar esta prova de forma equivocada, como indicador de acidez, interpretando amostras positivas ao teste como ácidas, causando descarte do leite, com conseqüente prejuízo para o produtor, e perda de oferta de matéria prima para a indústria. Mas nem todo leite que coagula no teste do etanol se mostra realmente acima do padrão de acidez exigido, caracterizando o fenômeno do leite instável não ácido (LINA), definido por Zanella et al., (2009) como a perda de estabilidade da caseína, ocorrendo sua precipitação na prova do álcool, sem, entretanto, haver acidez titulável acima do permitido (18°D). Embora a acidez elevada seja um dos principais fatores que levam à instabilidade da caseína ao etanol, outros fatores como a composição do leite, concentração de sais, presença de enzimas proteolíticas, CCS, podem levar à instabilidade.

O presente estudo objetiva a caracterização físico-química do LINA e a comparação com o leite normal, ou seja, estável a prova do etanol, e assim contribuir nas pesquisas sobre essa síndrome, para que se possa facilitar a tomada de decisões a respeito de qual é a melhor maneira de se manejar leites apresentando essa condição. Também se buscou identificar se existem benefícios no que se refere à qualidade físico-química do leite, em se aplicar teores alcoólicos acima do exigido pela legislação, na prova do etanol.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 O Agronegócio leiteiro**

O setor lácteo possui grande importância no cenário econômico brasileiro. Em 2013, o país atingiu a posição de 4º maior produtor de leite do mundo (SIQUEIRA et al., 2013), com uma projeção de produção mais de 34 bilhões de litros no ano de 2013 (BRASIL, 2013).

O Rio Grande do Sul é o segundo maior produtor de leite do Brasil, com produção anual de mais de 4 bilhões de litros de leite, tendo menor produção apenas que o estado de Minas Gerais (IBGE, 2013). O estado possui características ideais para a produção de leite por causa do seu clima temperado, fertilidade do solo, boa disponibilidade de água, produção predominantemente à base de pasto, em pequenas propriedades com mão de obra familiar e baixo custo de produção (KIRCHOF, 2011).

O agronegócio do leite no Brasil, principalmente o segmento de leite fluido, tem passado por importantes transformações desde o início da década de 90, quando ocorreram mudanças que redesenharam a estrutura produtiva das empresas agrícolas e as estratégias competitivas das indústrias. Dentre estas mudanças, as que mais afetaram a cadeia produtiva do leite foram: a desregulamentação do setor (liberação de preços), a redução tarifária de comércio entre países do MERCOSUL, retração da demanda promovida pelo Plano Collor e o deslocamento espacial da produção leiteira do eixo Sul-Sudeste para a região Centro-Norte do país em busca de custos de produção menores e sistemas de produção mais flexíveis (SIMÕES; OLIVEIRA, 2010).

O fim da intervenção do governo no setor de laticínios fez com que a concorrência entre as empresas aumentasse, provocando redução nos preços, estratégias de lançamento de novos produtos e aumento no volume de produção, além de crescimento da oferta de produtos

lácteos (BREITENBACH; SOUZA, 2011), fazendo do leite um dos produtos mais importantes da agropecuária brasileira (BARBOSA et al., 2002).

## **2.2 Cadeia produtiva e qualidade do leite**

Os avanços relacionados à qualidade do leite no Brasil foram lentos e aconteceram por etapas. Os caminhões com tanques isotérmicos e os sistemas de refrigeração nas fazendas para a refrigeração do leite pós-ordenha só foram introduzidas no sistema de produção no final dos anos 60, como exigia a legislação para o leite tipo B. Essas adaptações melhoraram muito a qualidade de leite e as condições de transporte, mas a coleta granelizada não foi adotada largamente pelos produtores. A grande adesão a este tipo de coleta só veio ocorrer na década de 90, com a globalização. Com isso, os produtores precisaram se modernizar e se tornar mais competitivos para poder enfrentar a concorrência (RUBEZ, 2003), melhorando, desta forma, a qualidade do leite.

Pode-se definir leite de qualidade como o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011) e que não sofreu adição de substâncias e/ou remoção de componentes, que esteja livre de deterioração microbiológica e da presença de patógenos (DÜRR, 2004).

A saúde da glândula mamária, a higiene durante a ordenha, o ambiente reservado ao alojamento dos animais e os procedimentos de limpeza do equipamento de ordenha (GUERREIRO et al., 2005), podem resultar em alterações na sua composição original e, conseqüentemente, nas características de sabor, cor, odor e viscosidade (PINNA; LIZIEIRE, 2000). Esta variação interfere também na aptidão para o processamento do leite e de seus derivados, reduzindo sua vida-de-prateleira e podendo colocar em risco a saúde do consumidor (BRITO; BRITO, 2001).

A contagem bacteriana no leite pode atingir a ordem de milhões de bactérias por mililitro, em que podem ser encontrados tanto micro-organismos patogênicos quanto deterioradores (BRITO; BRITO, 2001). Por isso, existe a necessidade de investimentos contínuos em boas práticas para a prevenção da contaminação do leite e do crescimento microbiano durante a cadeia produtiva, para que os problemas tecnológicos e econômicos na indústria de laticínios sejam reduzidos (PINTO et al., 2006).

### 2.2.1 Composição e características físico-químicas do leite

O leite é um alimento de elevado valor nutricional, constituído por aproximadamente 87% de água e 13% de sólidos totais (proteínas, gorduras, carboidratos, vitaminas e minerais) (GONZÁLES, 2001), como mostra a Tabela 1.

*Tabela 1: Composição do leite bovino.*

Constituinte	(%)
Água	87,2
Lactose	4,6
Gordura	4,0
Proteína	3,25
Caseínas	2,67
Proteínas do soro	0,58
Minerais	0,7
Outros	0,15

Fonte: GONZÁLES, 2001.

A composição do leite pode variar de acordo com alguns fatores, como por exemplo, raça, período de lactação, alimentação, saúde, período de cio, idade, características individuais, clima, espaço entre as ordenhas e estação do ano (VENTURINI et al., 2007).

A legislação brasileira estabelece alguns requisitos físico-químicos para o leite normal que devem ser seguidos pelos produtores de leite (Tabela 2) (BRASIL, 2011).

Tabela 2: Requisitos físico-químicos para leite cru refrigerado

<b>Requisitos</b>	<b>Limites</b>
Gordura (g/100 g)	Mínimo 3,0 <sup>(1)</sup>
Proteína (g/100 g)	mínimo 2,9
Densidade relativa a 15°C (g/mL)	1,028 a 1,034
Acidez titulável (g de ácido láctico/100 mL)	0,14 a 0,18
Extrato seco desengordurado (g/100 g)	mínimo 8,4
Índice Crioscópico	-0,530°H a -0,550°H

<sup>(1)</sup>: é proibida a realização de padronização ou desnate na propriedade rural.

Fonte: BRASIL, 2011.

A gordura é o componente de maior variabilidade no leite, dependendo principalmente da dieta fornecida aos animais, fator genético e período de lactação (PERES, 2001). Ela é responsável por boa parte das características sensoriais do leite (SANTOS; FONSECA, 2007) e tem sido importante na definição do pagamento pela qualidade do leite (BEHMER, 1980). De acordo com a legislação (BRASIL, 2011), ela deve estar presente em no mínimo 3,0% do leite cru nas propriedades leiteiras.

A lactose é um dissacarídeo formado por glicose e galactose, é sintetizada unicamente na glândula mamária e representa 4,8% do leite (FOX; McSWEENEY, 1998). A lactose é uma das responsáveis pela manutenção da pressão osmótica na glândula mamária, de forma que, uma maior produção de lactose determina uma maior produção de leite, com o mesmo teor de lactose (PERES, 2001).

As proteínas do leite podem ser classificadas em 2 grandes grupos: as caseínas e as proteínas do soro. Aproximadamente 80% das proteínas do leite são consideradas caseínas, que podem ser definidas como a fração proteica que precipita em pH igual a 4,6. Já as proteínas que não sofrem coagulação neste pH, são chamadas de proteínas do soro (FARRELL Jr et al., 2004).

A quantidade de proteína no leite é considerada pela indústria um dos parâmetros mais importantes de qualidade, pela sua alta relação com o rendimento industrial de alguns

produtos (LOPES, 2008). Mas embora a quantidade de proteína seja importante, a qualidade em termos de estabilidade térmica é fundamental, já que o leite precisa resistir ao tratamento térmico (ROMA Jr et al., 2007).

### **2.2.1.1 Estabilidade do leite**

O leite é um fluido biológico muito complexo, contendo proteínas, lipídios, carboidratos, sal, vitaminas e sistemas enzimáticos solúveis, coloidais ou emulsionados, sendo um sistema muito estável ao calor, que lhe permite ser submetido a tratamentos térmicos severos, com alterações menores em comparação a outros alimentos quando submetidos ao mesmo processo. No entanto, inúmeras alterações biológicas, químicas e físico-químicas ocorrem no leite durante o processamento térmico e que afetam a suas propriedades nutritivas, organolépticas e/ou tecnológicas (FOX; McSWEENEY, 1998).

Dentre as modificações nas propriedades tecnológicas, a coagulação das proteínas é a causa de maiores transtornos no processamento de lácteos. A estabilidade da micela de caseína depende da presença de  $\kappa$ -caseína na sua superfície (fração hidrofóbica da caseína), que reage com a água e impede a agregação das micelas (CREAMER et al., 1998). A estabilidade coloidal da micela pode ser afetada por diversos fatores, como por exemplo, a hidrólise enzimática da  $\kappa$ -caseína, exposição a altas temperaturas ( $> 120^{\circ}\text{C}$ ), acidificação ou pela adição de etanol (O'CONNELL et al., 2006).

De acordo com Singh (2004), a capacidade do leite de suportar altas temperaturas, sem coagular ou geleificar, é chamada de estabilidade térmica.

Existem diferentes métodos para avaliar ou estimar a estabilidade térmica do leite, entre eles banho de óleo, o teste da fervura (SILVA et al., 2012) e o teste do etanol (SINGH, 2004).

O banho de óleo é um teste no qual o leite é colocado em tubos de vidros e estes são presos a uma plataforma e colocados em um banho de óleo com temperatura controlada a 140°C. A plataforma é então agitada até que possa se observar o coágulo visualmente. O tempo de coagulação de calor é definido como o tempo decorrido entre a colocação da amostra de leite no banho de óleo e o aparecimento visível do coágulo (SINGH, 2004).

De acordo com a Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006), o teste de estabilidade a fervura é utilizado para verificar se há precipitação das proteínas do leite quando este é submetido ao aquecimento, pois quando o leite apresenta acidez elevada, há a formação de grumos (leite coagula).

Chavez et al. (2004) definem a estabilidade do leite à prova do etanol como a concentração mínima de uma solução aquosa de álcool que quando adicionada ao leite, é capaz de causar a sua coagulação. O princípio do teste do etanol fundamenta-se na capacidade do álcool de desestabilizar as micelas caseínas, resultando na sua precipitação (MARQUES et al., 2007).

Inicialmente, o teste do etanol foi utilizado pela indústria como uma medida de pH do leite (PERES, 2001). Atualmente, o teste do álcool é amplamente utilizado pelas indústrias lácteas por ser uma forma simples, barata e eficiente para se avaliar a qualidade do leite com relação à estabilidade das proteínas nas unidades de produção leiteira. As amostras em que a precipitação é constatada (amostras positivas) são recusadas pela empresa por serem consideradas inaptas aos processamentos térmicos (CHAVEZ et al., 2004; ZANELA et al., 2006; BOTARO, 2007; FISCHER et al., 2012).

Existem dúvidas ainda com relação a real capacidade da prova do álcool em determinar a estabilidade térmica do leite (SILVA et al., 2012). Diversos autores apontam falhas nessa correlação, encontrando o leite instável não ácido (LINA) e não observando

coagulação do leite no teste da fervura (MOLINA et al., 2001; CHAVEZ et al., 2004; SILVA et al., 2012).

A caseína é bastante estável a altas temperaturas e não é afetada pela pasteurização. Entretanto, quando há acidificação do leite, ocorre a desnaturação da proteína e conseqüentemente, formação de coágulos (SANTOS; FONSECA, 2007). A fermentação da lactose (produção de ácido láctico) por crescimento de micro-organismos mesófilos causa o aumento da acidez do leite provocando a instabilidade da proteína (ZANELA et al., 2006).

A instabilidade da proteína também pode ser causada pelo cálcio iônico presente no leite. A prova do álcool é sensível à variação do íon cálcio, pois causa uma diminuição da solubilidade deste mineral (PERES, 2001). Barros et al. (1999) observaram que valores mais elevados de cálcio iônico estão relacionados com a prova positiva do álcool. Segundo Santos e Fonseca (2007), a adição de citrato ao leite faz com que a estabilidade térmica do produto seja aumentada, pela capacidade do citrato de sequestrar o cálcio iônico presente no meio.

#### **2.2.1.2 Capacidade de tamponamento**

A capacidade de tamponamento é uma característica físico-química importante que corresponde à capacidade do produto ter sua acidificação ou alcalinização. Diferentes protocolos de titulação podem ser utilizados: somente acidificação, acidificação e alcalinização, somente alcalinização ou alcalinização e depois acidificação. Os parâmetros da capacidade de tamponamento do leite dependem de vários fatores da sua composição, incluindo pequenos constituintes (fosfato inorgânico, citrato, ácidos orgânicos) e as proteínas (caseínas e proteínas do soro) (SALAÜN et al., 2005). A ação conjunta de todos estes

sistemas tampão mantém a concentração de hidrogênio do leite próximo a um pH de 6,6 (GONZÁLEZ, 2001).

Van Slyke (1922) definiu a relação  $dB / dpH$  para calcular a capacidade de tamponamento num intervalo de pH definido. Esta razão expressa a relação entre a adição de ácido ou base ( $dB$ ) e mudanças no pH ( $dpH$ ) (Equação 1):

$$\frac{dB}{dpH} = \frac{(\text{volume de ácido ou base adicionada}) \times (\text{normalidade do ácido ou base})}{(\text{volume da amostra}) \times (\text{mudança no pH})}$$

Alguns processos tecnológicos, como por exemplo, o tratamento térmico ou o tratamento de alta pressão do leite, resultam em uma capacidade de tamponamento específica para o produto transformado (SALAÜN et al., 2005).

Dependendo da intensidade do tratamento térmico e da composição do leite, a capacidade de tamponamento pode ser modificada em maior ou em menor grau. Tratamento térmico inferior a 100 °C por 10 minutos induzem a um ligeiro aumento na capacidade de tamponamento em torno do pH 5. Contrariamente, um tratamento térmico intenso (120 °C / 10 minutos) aumenta a capacidade de tamponamento, deslocando o pico máximo de pH 5,0-5,2 do leite cru, para pH 4,3-4,5 para o leite aquecido (LUCEY et al., 1993). O'Connell e colaboradores (2001) afirmam que a adição de álcool no leite induz uma mudança na capacidade de tamponamento para um pH alcalino.

### **2.2.2 Características do leite instável não- ácido (LINA)**

De acordo com a Instrução Normativa nº 62 (Tabela 2) (BRASIL, 2011), o leite deve apresentar acidez entre 14 e 18°D e ser estável em solução alcóolica com no mínimo 72°GL de etanol. O leite instável não-ácido (LINA) caracteriza-se pela perda de estabilidade da

caseína, ocorrendo sua precipitação na prova do álcool, sem, entretanto, haver acidez titulável acima do permitido (18°D) (ZANELA et al., 2009).

O LINA é uma alteração cujas causas ainda não estão claramente definidas. Este problema acomete rebanhos leiteiros alterando as propriedades físico-químicas do leite, e pode provocar diversos prejuízos ao longo da cadeia produtiva do leite. O fato de o leite coagular sem estar ácido leva a confusões, pois o leite é erroneamente interpretado como ácido, mesmo apresentando baixa contagem bacteriana, penalizando o produtor sem que esse possa identificar o que acontece no rebanho. Este fato acarreta perdas econômicas tanto ao produtor, que não recebe pelo pagamento do leite, quanto à indústria de laticínios, que tem o seu fornecimento de leite diminuído (MARQUES et al., 2007; ZANELA et al., 2009; MARX et al., 2011; FISCHER et al., 2012).

Há indicações de que a instabilidade do leite tenha causas multifatoriais. Segundo Zanela e colaboradores (2006) a ocorrência do LINA é maior em bovinos com alto potencial genético ou em épocas de estresse nutricional e/ou calórico. Entre os fatores de maior importância, podem-se destacar os desequilíbrios em energia e proteínas associados às características da dieta, com complicações no ambiente ruminal e comprometimento do metabolismo geral (MARQUES et al., 2007; ZANELA et al., 2009).

Ao se comparar o LINA com um leite estável, algumas diferenças com relação à composição podem ser observadas. Ponce Ceballo e Hernández (2001) afirmam que o LINA se caracteriza pela diminuição dos sólidos do leite, diminuição na sua estabilidade térmica e na sua capacidade tamponante. Estudos indicam um aumento na quantidade gordura e uma diminuição nos teores de lactose (FISCHER et al., 2006; OLIVEIRA; TIMM, 2006; MARQUES et al., 2007; ZANELA et al., 2009). No entanto, existem controvérsias com relação ao teor de proteína entre os dois tipos de leite. Oliveira e Timm (2006) afirmam não haver diferença entre a quantidade de proteína, já Barros e colaboradores (1999) e Marques e

colaboradores (2007), encontraram no LINA teores maiores do componente do que no leite estável, resultados contrários aos que Oliveira e colaboradores (2011) encontraram no período de seca.

Na Tabela 3 estão apresentados valores médios de alguns parâmetros físico-químicos de leite estável e de LINA de um trabalho realizado no Rio Grande do Sul (MARQUES et al., 2007).

Tabela 3 : Valores médios para o leite normal e o LINA quanto aos aspectos físico-químicos

Componentes	Normal	LINA
Gordura (%)	3,52	3,62
Proteína bruta (%)	3,06	3,03
Lactose (%)	4,42	4,32
Extrato seco total (%)	11,91	11,91
Acidez titulável (°D)	16,79	15,81
Crioscopia (°H)	-0,544	-0,544
CCS (células/mL X 1.000)	401	463

Fonte: MARQUES et al., 2007.

Quanto maior o teor de fibras na alimentação, maior será o teor de gordura no leite. Uma maior ingestão de fibras aumenta a produção de ácido acético (OLIVEIRA; TIMM, 2006), que é um dos principais precursores da gordura do leite e está diretamente relacionado com o aumento desta no leite (PERES, 2001).

Animais que receberam suplementação com concentrados, em geral de forma balanceada, permite a produção de um leite com equilíbrio iônico normal e com caseína estável.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Determinar a ocorrência e as características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) em uma fábrica de laticínios situada no norte do estado do Rio Grande do Sul.

#### **3.2 Objetivos específicos**

a) Identificar o LINA em amostras de leite provenientes dos tanques de caminhões que realizam o transporte a granel, em uma fábrica de laticínios situada no norte do estado do Rio Grande do Sul.

b) Determinar as características físico-químicas (temperatura, pH, acidez, estabilidade à fervura, estabilidade ao etanol, capacidade de tamponamento, índice crioscópico, gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado) de leites identificados como LINA e de leites normais.

c) Avaliar de forma comparativa as características físico-químicas de LINA e leite normal.

d) Avaliar de forma comparativa as características físico-químicas de leites apresentando diferentes graus de estabilidade ao etanol.

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O período experimental foi de janeiro a março de 2013, em uma fábrica de laticínios situada no norte do estado do Rio Grande do Sul, a qual beneficia em média 60 mil litros de leite por dia, provenientes de mais de 930 propriedades rurais, número este que pode variar ao longo dos meses. A coleta de leite é totalmente granelizada através de 16 rotas de captação.

A maioria dos produtores realiza ordenha manual. Já os tanques de expansão são amplamente utilizados, exceto nos casos de produtores aonde a pecuária leiteira não é a principal atividade, estes ainda utilizam resfriadores por imersão, de acordo com as informações recebidas na indústria.

Anteriormente ao carregamento do leite para o caminhão isotérmico na propriedade, são colhidas amostras de leite diretamente do resfriador, identificadas e armazenadas em caixas isotérmicas, para análises complementares, se necessário. Também é realizado o teste do alizarol conforme IN 68 (BRASIL, 2006). A indústria utiliza o alizarol a uma concentração de 78°GL, aonde o leite que se apresentar instável, com presença de grumos e coloração marrom clara a amarela, é rejeitado.

A indústria produz principalmente queijo prato e mussarela, além de outras linhas de processamento como ricota, doce de leite, requeijão, bebida láctea e manteiga, totalizando uma linha de 38 produtos.

##### **4.1 Amostras**

O leite de mistura foi coletado diretamente dos reservatórios dos caminhões na plataforma de recebimento, sendo que cada tanque compunha uma amostra. Antes da coleta, o leite era homogeneizado por funcionário treinado. Eram colhidos 150 ml em frasco de vidro

com tampa de rosca e identificado com o número da rota e do tanque. A temperatura de cada amostra era mensurada e, após, acondicionada em geladeira, até a realização das análises em no máximo 6 horas.

Foram analisadas 651 amostras durante o experimento. As análises foram realizadas em local reservado, a fim de evitar interferências no trabalho do laboratório do controle de qualidade da fábrica.

## **4.2 Análises físico-químicas**

As amostras foram submetidas às análises físico-químicas na seguinte sequência: estabilidade ao etanol (BRASIL 2006), pH, capacidade de tamponamento (adaptado de YINGQUN NIAN, 20012), acidez titulável pelo método Dornic e fervura (BRASIL, 2006).

Os dados de composição e crioscopia foram obtidos através das análises realizadas pelo controle de qualidade da indústria, executadas em analisador por ultrassom (VENTUROSOSO, 2007), modelo Ekomilk<sup>®</sup> Total /CapLab, e crioscópio eletrônico Mc 5400/ Tex Tech (BRASIL, 2006), respectivamente.

### **4.2.1 Estabilidade ao etanol**

A estabilidade ao etanol foi definida como sendo a graduação alcoólica máxima em que a amostra não apresentou coagulação. A graduação alcoólica testada foi de 60 a 88°GL, com intervalos de 2°. O critério de normalidade adotado para esse teste foi o mesmo exigido pela IN 62 (BRASIL, 2011), segundo a qual o leite cru deve apresentar-se estável no mínimo ao álcool 72°GL.

#### 4.2.2 pH e capacidade de tamponamento

O pH foi mensurado com o pHmetro de bancada (Digimed, DM20). Após a medida, a amostra era adicionada de 4 mL de ácido clorídrico 0,1N. A amostra então, permanecia em repouso por 1 hora à temperatura ambiente, e o pH era mensurado novamente. A capacidade de tamponamento do leite é o resultado da diferença entre pH final e pH inicial (adaptado de YINGQUN NIAN, 2012).

#### 4.3 Caracterização do Leite Instável Não Ácido (LINA)

As amostras que apresentaram coagulação ao álcool 72°GL, porém, apresentando acidez normal de 14 a 18°D, foram classificadas como LINA. As amostras também apresentando acidez normal, todavia, estável ao álcool 72°C, foram classificadas como leite normal.

#### 4.4 Análises estatísticas

Após análise descritiva, as amostras foram estratificadas considerando dois critérios que foram avaliados separadamente:

Leite Instável não Ácido- LINA (leite instável ao álcool 72°GL, e acidez normal- 14 a 18°D) *versus* leite normal (leite estável ao álcool 72°GL e acidez normal).

Graus de estabilidade ao etanol:  $\leq 70$ , 72-76,  $\geq 78$ ;

Cada critério teve seu conjunto de dados submetido a ANOVA e ao teste de Kruskal-Wallis, a um nível de significância de 0,05.

O teste de correlação de Pearson também foi utilizado em alguns casos, para detectar possíveis relações entre variáveis.

Utilizou-se o software SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

## **5. ARTIGO 1<sup>1</sup>**

### **Caracterização físico-química de leite normal e leite instável não ácido (LINA)**

**Caracterização físico-química de leite normal e leite instável não ácido (LINA)**  
**Physical-chemical characterization of normal milk and unstable non-acid milk (UNAM)**

**Alana Ciprandi<sup>2</sup>, Andrea Troller Pinto<sup>3\*</sup>**

**RESUMO**

O objetivo do presente trabalho foi identificar a ocorrência de leite instável não ácido (LINA) na região estudada e comparar as características físico-químicas entre o LINA e o leite normal. As coletas foram realizadas no período de janeiro a março de 2013, em um laticínio localizado ao norte do Estado do Rio Grande do Sul. Coletou-se um total de 651 amostras de leite cru (aproximadamente 150 mL), diretamente dos reservatórios dos caminhões na plataforma de recebimento na indústria. As amostras foram armazenadas em temperatura de refrigeração e foram analisadas em no máximo 6 horas. As amostras foram separadas conforme os parâmetros de estabilidade ao etanol 72 °GL e acidez titulável em 2 grupos: LINA ( instável ao etanol 72 °GL e acidez titulável entre 14 e 18 °D) e leite normal (estável ao etanol 72 °GL e acidez entre 14 e 18 °D). Determinou-se também a composição centesimal, crioscopia, estabilidade à fervura, pH e capacidade de tamponamento. As demais amostras que não se enquadraram nestes 2 grupos foram desconsideradas. Das 592 amostras estratificadas, 361 (60,98%) foram classificadas como LINA e 231 (39,02%) como leite normal. Para os testes de estabilidade ao etanol, acidez e pH e para gordura, proteína e extrato seco desengordurado, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis entre o LINA e o leite normal, com LINA apresentando os maiores resultados. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) para a capacidade de tamponamento, crioscopia e quantidade de lactose. Com os resultados obtidos pode-se concluir que a incidência de LINA na região é elevada

2 Pós- graduanda em Ciências Veterinárias PPGCV/ UFRGS.

3 Profa. Dra. do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/ UFRGS; E-mail: [andrea.troller@ufrgs.br](mailto:andrea.troller@ufrgs.br)  
\*Autor para correspondência.

(60,98%); e que este leite apresentou estabilidade no teste de fervura, provando a ineficiência de se utilizar somente o teste do etanol para prever a estabilidade térmica das proteínas.

**Palavras-chave:** leite, estabilidade, características físico-químicas.

### **ABSTRACT**

*The objective of this study was to compare the physico-chemical properties of the unstable non-acid milk (UNAM) and normal to contribute to studies on constituents and/or chemical changes responsible for the instability of UNAM to alcohol. The collections were made in the period of January to March 2013 in a dairy located north of the State of Rio Grande do Sul. There were collected a total of 592 raw milk samples (approximately 150 mL), which were collected directly from reservoirs of trucks on the receiving platform in the industry. The samples were stored at refrigerator temperature and analyzed in a maximum of 6 hours on . The samples were evaluated for stability to 72 ° GL ethanol and titratable acidity and based on these vestments were separated into 2 groups: UNAM (coagulates when mixing equal amount of milk and ethanol 72 ° GL and titratable acidity between 14 and 18 ° D) and normal milk (stable in the presence of ethanol and acidity between 14 D and 18). We also determined the chemical composition, freezing point, boiling stability, pH and buffering capacity. The remaining samples not classified in these 2 groups were disregarded. Of the 592 samples analyzed, 361 (60.98 %) were classified as LINA and 231 (39.02 %) as normal milk. For stability tests to ethanol, pH and acidity and fat, protein and solids nonfat, a significant difference ( $p < 0.05$ ) by Kruskal wallis test between UNAM and normal milk, with UNAM presenting the higher values. There was no difference ( $p > 0.05$ ) for the buffering capacity, freezing point and the amount of lactose. From the obtained results it can be concluded that the incidence of UNAM in the region is high, and that this milk was stable in the boiling test, proving the inefficiency of using only this test to predict the thermal stability of proteins.*

*Key words: milk, stability, physical-chemical characterization.*

## **INTRODUÇÃO**

O controle da qualidade do leite que chega à plataforma de recepção das usinas de beneficiamento e nas fábricas de laticínios, além de ser fundamental para garantir a segurança dos alimentos, norteia a forma de processamento dessa matéria-prima (CIPRANDI et al., 2012). A quantidade de proteína no leite é considerada pela indústria um dos parâmetros mais importantes de qualidade, pela sua alta relação com o rendimento industrial de alguns produtos (LOPES, 2008). Mas embora a quantidade de proteína seja importante, a estabilidade térmica é fundamental, já que o leite precisa resistir ao tratamento térmico (ROMA Jr et al., 2007).

De acordo com Singh (2004), a capacidade do leite de suportar altas temperaturas, sem coagular ou geleificar, é chamada de estabilidade térmica. O teste do etanol ainda é o recurso utilizado no Brasil para a avaliação da estabilidade térmica pelas indústrias. Marques et al. (2002) explicam que, a prova avalia a estabilidade das proteínas lácteas submetidas à desidratação provocada pelo álcool, e é usada para estimar a estabilidade do leite quando submetido ao tratamento térmico. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento através da Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011) determinou como critério inicial de aceitação do leite pela indústria, a realização do teste do álcool na concentração mínima de 72°GL.

Problemas relacionados à estabilidade do leite ao teste do álcool foram, por muito tempo, ignorados ou confundidos com os relacionados à acidez elevada (RIBEIRO et al., 2011). O leite instável não ácido (LINA) caracteriza-se pela perda de estabilidade da caseína, ocorrendo sua precipitação na prova do álcool, sem, entretanto, haver acidez titulável acima

do permitido (18°D) (ZANELA et al., 2009). A ocorrência de LINA é um fenômeno complexo, de causas múltiplas, que altera as características físico-químicas do leite, tornando-o instável ao álcool, mesmo estando dentro dos padrões normais de acidez (FISCHER, 2005).

Alterações relacionadas à estabilidade térmica do leite já foram relatadas em diferentes países do mundo e da América Latina, no Chile (MOLINA et al., 2001), em Cuba (PONCE, 2001), no Uruguai (BARROS, 2001) e no Brasil (MARQUES et al., 2007; ZANELA et al., 2009; MARX et al., 2011).

Conhecer as características do leite instável ao álcool ou ao tratamento térmico, é fundamental para evitar o descarte equivocado de leites legalmente aceitos, desagradando os produtores, ou o aceite de leites desqualificados, prejudicando as indústrias e os consumidores (FRUSCALSO, 2007).

O objetivo deste trabalho é a comparação das características físico-químicas entre LINA e leite normal.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Nos meses de janeiro a março de 2013, foram coletadas 592 amostras de leite proveniente de caminhões-tanque em plataforma de recepção de uma fábrica de laticínios situada no norte do estado do Rio Grande do Sul, a qual beneficia mais de 60 mil litros de leite por dia. Após a aferição da temperatura, as amostras (150 mL) foram coletadas em frasco de vidro com tampa, sendo que cada tanque compunha uma amostra.

As amostras, então foram avaliadas quanto a estabilidade ao etanol 72°GL e a acidez titulável (BRASIL, 2006). Então foram separadas em dois grupos e classificadas como Leite Instável Não Ácido (instáveis ao etanol 72°GL e acidez titulável entre 14 e 18°D) de acordo com Zanella et al. (2009); e Leite Normal (estáveis ao etanol 72°GL e acidez entre 14 e 18°D). Demais amostras de leite que porventura foram coletadas e que não se enquadraram nos dois grupos (por exemplo: instável ao etanol 70°GL e acidez maior que 18°D) foram

desconsideradas.

Nestas amostras foi determinada a composição por analisador por ultrassom (VENTUROSOSO, 2007) modelo Ekomilk<sup>®</sup> Total /CapLab, e crioscopia pelo equipamento Mc 5400/ Tex Tech (BRASIL, 2006).

Foi determinado o grau de estabilidade ao etanol das amostras de leite, definida como a graduação alcoólica máxima em que a amostra de leite não apresentou coagulação. As graduações alcoólicas utilizadas foram de 60 a 88°C, com intervalos de 2°GL. Também foi determinada a estabilidade do leite a fervura (BRASIL, 2006) e pH. A capacidade de tamponamento foi obtida pela diferença de pH após acidificação (adaptado de YINGQUN, 2012). Foram avaliadas um total de 592 amostras de leite. Todas as amostras eram analisadas no mesmo dia de sua chegada, com intervalo máximo, entre coleta e análise, de 6 horas.

Os dados foram tratados por análise de variância multivariada (MANOVA) ( $p < 0,05\%$ ), teste de Kruskal Wallis e correlação de Pearson, com o software SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A caracterização das amostras de leite coletadas, bem como os resultados médios das determinações de estabilidade ao etanol, temperatura, acidez, capacidade de tamponamento e pH estão apresentados na tabela 1. Apenas a capacidade de tamponamento não apresentou diferença significativa ( $P > 0,005$ ) entre os grupos LINA e normal.

Do total de 592 amostras analisadas, 361(60,97%) foram classificadas como LINA e 231 (39,02%) como leite normal. Essa alta incidência de LINA encontrada na região norte do Rio Grande do Sul, reforça os resultados já relatados no estado. Zanella et al. (2009) ao analisarem 2.396 amostras de leite cru no noroeste do RS, identificaram 55,2% como LINA; Marques et al. (2007) classificaram 58% de 9.892 amostras como LINA. Embora a graduação alcoólica utilizada por esses autores tenha sido de 76°GL, se adotado o álcool 72°G, os

resultados se aproximariam ainda mais dos relatados no presente estudo.

A estabilidade ao álcool média encontrada no grupo LINA foi de 66,53°GL, com temperatura de 10,91°C, acidez 15,74°D e pH de 6,86. Já o leite normal apresentou estabilidade média de 74,61°G, temperatura 10,38°C, acidez 14,99 e pH de 6,90. O teste de fervura, não apresentado na tabela por ter demonstrado resultado negativo em todas as amostras, ou seja, todas as amostras eram termicamente estáveis e poderiam ser recebidas pela indústria, reforça a ideia de que o teste de estabilidade ao álcool não é um bom indicador de estabilidade térmica. Da mesma maneira, Negri (2002) concluiu, que o teste de estabilidade ao álcool, utilizado de forma isolada, não avalia de forma adequada a estabilidade térmica do leite. Abreu (2008) também apontou para este fato, aonde amostras com baixa estabilidade ao etanol, não coagularam ao passarem pelo teste de fervura.

Os dois grupos apresentaram diferença significativa na acidez titulável, o LINA teve acidez média de 15,74°D, variabilidade de 0,75°D em relação ao leite normal, de 14,99°D. De maneira contrária, Marques et al (2007) detectaram no LINA acidez ligeiramente abaixo a da encontrada no leite normal; já Oliveira et al (2011) não encontraram diferença significativa nas médias de acidez entre LINA e normal. A estabilidade ao álcool e a acidez demonstraram correlação negativa moderada a forte ( $r=-0,571$ ).

A média da temperatura constatada em todo o estudo foi de 10,64°C, todavia, é exigência do MAPA que o leite chegue à plataforma de recebimento da indústria, nos tanques dos caminhões isotérmicos, a no máximo 10°C. O grupo LINA teve 10,91°C de média, enquanto o grupo de leite normal apresentou 10,38°C. As variáveis temperatura e estabilidade ao álcool demonstraram correlação negativa fraca ( $r=-0,220$ ).

O pH normal do leite pode sofrer uma variação de 6,6 a 6,8 (TRONCO, 2010), em ambos os grupos o pH se mostrou fora dos padrões, com média de 6,86 no LINA, e 6,90 no leite normal.

As variáveis pH e estabilidade ao etanol exibiram correlação positiva fraca ( $r=0,178$ ). Resultado que reflete a fragilidade de o teste do álcool ser empregado como indicador de acidez no leite (mesmo não sendo a função da prova, a indústria interpreta dessa forma) já que leites de boa qualidade podem ser interpretados como ácidos, característica compatível com alta contaminação microbiológica.

A capacidade de tamponamento não diferiu de forma significativa entre os grupos, com média de 1,16 no grupo LINA, e 1,15 no leite normal.

A composição e os resultados médios de crioscopia do LINA e do leite normal são mostrados na tabela 2. Gordura, proteína e extrato seco desengordurado (ESD) apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os 2 grupos, já a lactose e a crioscopia não diferiram de forma significativa ( $P<0,05$ ).

A gordura é o componente lácteo mais sujeito a variações (PERES, 2001). Os teores de gordura foram significativamente mais elevados no LINA, com 0,09% de diferença, corroborando com os resultados encontrados por Ponce e Hernandez, 2001; Oliveira e Timm, 2006; Marques, 2007; Lopes, 2008 e Oliveira, 2011. A percentagem de gordura tanto no LINA quanto no leite normal, se manteve acima de 3%, exigido pelo MAPA (IN 62).

O extrato seco desengordurado demonstrou variabilidade de 0,05% entre os grupos, estando o LINA com a maior percentagem, de 8,57%. Lopes (2008), de forma contrária, relatou ESD mais alto em leite estável (8,54%), em comparação ao LINA (8,14%).

A percentagem de proteína também apresentou variabilidade significativa entre os grupos, no entanto, dentre os fatores que diferiram foi o de menor amplitude de variação, aonde o LINA exibiu em média 3,06%, apenas 0,02% acima do encontrado no grupo de leite normal (3,04%). Porém, em outros trabalhos realizados sobre a comparação da composição de LINA e leite normal, os teores de proteína bruta foram superiores no leite normal (Ponce e Hernandez, 2001; Oliveira e Timm, 2006; Marques, 2007; Lopes, 2008 e Oliveira, 2011).

A concentração de lactose não sofreu alteração significativa entre os grupos, tendo como resultado médio 4,85% em todas as amostras analisadas. Já nos trabalhos realizados por Ponce e Hernandez, 2001; Oliveira e Timm, 2006; Marques, 2007; Lopes, 2008 e Oliveira, 2011, o leite normal apresentou teores médios de lactose significativamente mais elevados que a média da lactose do LINA.

O ponto de congelamento, ou índice crioscópico, se manteve sem alteração entre os grupos, com média de  $-0,536^{\circ}\text{H}$ , caracterizando leite apto para industrialização segundo o MAPA, o qual exige como índice aceitável entre  $-0,530$  a  $-0,550^{\circ}\text{H}$ . Marques et al (2007) também relataram não ter encontrado diferença significativa entre os índices crioscópicos de leite normal e LINA. Por outro lado, Ponce e Hernandez (2001) verificaram um aumento no ponto de congelamento em LINA, caracterizando um leite mais diluído.

## **CONCLUSÃO**

Há uma alta incidência de LINA na região estudada, esta generalização é possível, pois toda a produção leiteira comercial dos dois municípios é captada apenas pela fábrica de laticínios em questão.

Todas as amostras foram negativas ao teste de fervura, demonstrando a ineficiência em se aplicar o teste do etanol como indicador de estabilidade térmica.

Embora haja diferenças de qualidade, quando se compara LINA e leite normal, ambas as categorias apresentaram características compatíveis com o exigido pela legislação brasileira

## REFERÊNCIAS

ABREU, A. S. Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey. 2008. 111f. **Dissertação** (Mestrado) Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, 2008. Disponível em: < <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/14912>> Acesso em: 13 ago 2013.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 46-60, 2001. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26656/000308502.pdf?sequence=1>> Acesso em: 10 ago 2013.

BRASIL. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF. Seção 1, p.8. 2006. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>>. Acesso em: 08 ago 13.

BRASIL. Instrução Normativa nº62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF. Seção 1, p.6. 2011. Disponível em: <<http://www.leitebrasil.org.br/legislacao.htm>>. Acesso em: 14 ago 2013.

CIPRANDI, A. et al. Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em uma usina de beneficiamento da região metropolitana de Porto Alegre- RS. **Veterinária em Foco**, v.9, p.128-133, 2012. Disponível em:< [http://www.ulbra.br/medicina-veterinaria/files/revista\\_v9\\_n2.pdf](http://www.ulbra.br/medicina-veterinaria/files/revista_v9_n2.pdf)>. Acesso em: 06 jul 2013.

DANCEY, C., REIDY, J. Estatística sem matemática para psicologia: Usando SPSS para Windows. Porto Alegre, Artmed.

FISCHER, V. Incidência, caracterização, quadro experimental e tratamento do leite instável

não ácido (LINA) no Rio Grande do Sul. In: **Relatório técnico** final das atividades desenvolvidas relativas ao projeto 474974/2003-0. 2005. 70 p.

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 do Leite Instável Não Ácido. 2007. 134p. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 2007. Disponível em: < <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/12440>>. Acesso em: 14 ago 2013.

LOPES, L. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, Estado de São Paulo. 2008. 64 f. **Dissertação** (Mestrado)-Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-29042008-103024/pt-br.php>>. Acesso em 19 jul 2013.

MARQUES, L. T. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Rev. Bras. Agrociência**, v.13, n.1, p.91-97, jan-mar 2007. Disponível em: < <http://www2.ufpel.edu.br/faem/agrociencia/v13n1/artigo14.htm>>. Acesso em: 16 mai 2013.

MARX, I. G. et al. Ocorrência de Leite Instável Não Ácido na Região Oeste do Paraná. **Rev. Ciências Exatas. e Naturais**, vol.13, nº1, jan-jun, 2011.

MOLINA, L. H. et al. Correlación entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. **Arch. Medicina Veterinária.**, Valdivia, v. 33, n. 2, 2001. Disponível em: < [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2001000200012](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2001000200012)>. Acesso em: 04 ago 2013.

NEGRI, L. M. Estudio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre La estabilidad térmica. 2002. 169 f. **Tesis** (Magister) Facultad de Ingeniería Química,

Argentina, 2002.

OLIVEIRA, D. S. & TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v.26, n.2, p.259-263, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612006000200005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612006000200005&script=sci_arttext)>.

Acesso em 06 agos 2013.

OLIVEIRA, C. A. F. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, n.2, p.508-515, 2011. Disponível em: <<http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/1909/1119>>. Acesso em: 14 ago 2013.

PERES Jr., J. R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D. et al. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. P.44-57, 2001. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26656/000308502.pdf?sequence=1>>

Acesso em: 13 ago 2013.

PONCE, P. C; HERNÁNDEZ, R. Propriedades Físico-químicas do Leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 58-68, 2001. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26656/000308502.pdf?sequence=1>>

Acesso em: 07 ago 2013.

RIBEIRO, M. E. R. et al. Monitoramento da mastite em um rebanho Jersey no sul do Rio Grande do Sul- Resultados parciais 201. In: XIV Fórum de Produção Pecuária Leite e I Salão de Trabalhos Científicos. **Anais...** p.201-206, 2011.

ROMA JR, L. et al. Estudo da proteína do leite em termos de qualidade e quantidade... Disponível em:< <http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p044.pdf>>. Acesso em: 09 ago 2013.

SINGH, H. Heat Stability of Milk. *International Journal of Dairy Technology*. V.57, n2/3, p.111-119. 2004. Disponível em: < <http://www.aseanfood.info/Articles/11025207.pdf>>.

Acessado em: 20 jul 2013.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 4.ed. Santa Maria: UFSM, 2010.

VENTUROSOS, R. C. Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultrassom. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.4, p.607-613, 2007. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322007000400014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322007000400014&script=sci_arttext)>.

Acessado em: 20 jul 2013.

YINGQUN, N. et al. Naturally occurring variations in milk pH and ionic calcium and their effects on some properties and processing characteristics of milk. **International Journal of Dairy Technology**, v.65, n.4, p.490-497, 2012.

ZANELA, M.B. et al. Ocorrência de leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.61, n.4, p.1009-1013, 2009. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352009000400035&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352009000400035&script=sci_arttext)>. Acessado em 20 ago 2013.

Tabela 1 - Número de amostras caracterizadas como Leite Instável Não Ácido – LINA (acidez entre 14 e 18°D, instável ao álcool 72) e leite normal (acidez entre 14 e 18°D, estável ao álcool 72°D) e valores médios e desvios padrão das análises físico-químicas do leite cru de conjunto recebido em uma fábrica de laticínios, situada no norte do Estado do Rio Grande do Sul.

Categoria	LINA	Normal
Amostras	361	231
Estabilidade (°GL)	66,53 <sup>a</sup> ±3,36	74,61 <sup>b</sup> ±3,21
Temperatura (°C)	10,91 <sup>a</sup> ±1,50	10,38 <sup>b</sup> ±1,24
Acidez (°D)	15,74 <sup>a</sup> ±0,82	14,99 <sup>b</sup> ±0,66
Tamponamento	1,16 ±0,19	1,15 ±0,16
pH	6,86 <sup>a</sup> ±0,10	6,90 <sup>b</sup> ±0,11

<sup>a</sup>Valores com sobrescritos diferentes em uma mesma linha são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis (P<0,05).

Tabela 2 - Valores médios e desvios padrão da composição centesimal e crioscopia, do Leite Instável Não Ácido – LINA (acidez entre 14 e 18°D, instável ao álcool 72°GL) e leite normal (acidez entre 14 e 18°D, estável ao álcool 72°GL), do leite cru de conjunto recebido em uma fábrica de laticínios, situada no norte do estado do Rio Grande do Sul.

Categoria	LINA	Normal
Gordura	3,87 <sup>a</sup> ±0,26	3,78 <sup>b</sup> ±0,21
Proteína (%)	3,06 <sup>a</sup> ±0,08	3,04 <sup>b</sup> ±0,06
Lactose (%)	4,86 ±0,10	4,85 ±0,75
ESD (%)	8,57 <sup>a</sup> ±0,13	8,52 <sup>b</sup> ±0,13
Crioscopia (°H)	-0,536 ±0,004	-0,536 ±0,003

<sup>a</sup>Valores com sobrescritos diferentes em uma mesma linha são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis (P<0,05).

## 6. ARTIGO 2<sup>1</sup>

### **Caracterização físico-química do leite com diferentes graus de estabilidade ao etanol**

<sup>1</sup> Artigo formatado conforme normas da *Acta Scientiae Veterinariae* (UFRGS).

## **Caracterização físico-química do leite com diferentes graus de estabilidade ao etanol**

### **Physical-chemistry characterization of milk with different degrees of stability to ethanol**

**Alana Ciprandi, Andrea Troller Pinto**

Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados, Ovos e Mel (LEITECIA), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (LMVP)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves n°.9090, Bairro Agronomia, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. CORRESPONDÊNCIA: A. T. Pinto [[andrea.troller@ufrgs.br](mailto:andrea.troller@ufrgs.br)], A. Ciprandi [[alana.vet@hotmail.com](mailto:alana.vet@hotmail.com)].

#### **RESUMO**

*Introdução:* A estabilidade térmica do leite é de fundamental importância na indústria de lácteos, já que a maioria dos processos empregados no beneficiamento e transformação do leite é conseguida empregando-se calor. No Brasil o teste utilizado para se mensurar essa estabilidade é o teste de estabilidade ao etanol, que conforme a legislação deve ter graduação mínima de 72°GL. O objetivo do presente estudo foi identificar as diferenças físico-químicas entre leites com diferentes graus de estabilidade ao etanol, para verificar se há vantagens reais ao se ultrapassar o mínimo de 72°GL, exigido pela legislação.

*Material, Métodos e Resultados:* Entre os meses de janeiro e março de 2013, foram coletadas do reservatório de caminhões-tanque, 651 amostras de leite cru de um laticínio localizado ao norte do Estado do Rio Grande do Sul. As amostras foram coletadas na plataforma de recebimento e analisadas em até 6 horas após a coleta. Avaliou-se o leite com relação à estabilidade ao etanol de 60 a 88 °GL (com intervalos de 2 °GL), acidez titulável, resistência a fervura, pH, capacidade de tamponamento, composição centesimal (gordura, proteína, lactose, ESD) e crioscopia. As amostras de leite foram divididas com relação à estabilidade do etanol em 3 categorias: 1 (estável ao álcool com concentração menor que 70 °GL); 2 (entre 72 e 76 °GL) e 3 (maior que 78 °GL). Do total, 398 (61,14%) amostras se mostraram instáveis ao

álcool 72 °GL e destas, 6 apresentaram acidez acima de 18 °D, perfazendo desta forma, 392 (60,21%) amostras caracterizadas como leite instável não ácido (LINA). Os dados foram tratados pelo teste estatístico de *Kruskal-Wallis*, que é capaz de identificar se os estratos possuem funções de distribuição diferentes.

*Discussão:* As amostras estratificadas no grupo 1 apresentaram acidez Dornic significativamente maior que as demais amostras, com média de 16,12 °D. A média geral de temperatura aferida foi de 10,5°C, houve diferença significativa nas médias de temperatura entre o grupo 1 e os outros dois grupos. O grupo 1 mostrou pH médio de 6,84, diferente significativamente dos outros 2 grupos, aonde o grupo 1 teve o maior resultado, a gordura, a proteína e o ESD apresentaram diferença significativa entre os 3 grupos, observa-se que ao diminuir a estabilidade ao etanol, aumenta a proporção de sólidos. A concentração média de lactose foi significativamente superior nos estratos de menor estabilidade, sem apresentar diferença entre o grupo 1 e 2. O índice crioscópico se mostrou diferente estatisticamente, sendo que nos grupos de menor estabilidade ao etanol (1 e 2) não se obteve essa diferença. A capacidade de tamponamento não apresentou diferença significativa entre os grupos, apenas amostras que foram identificadas como ácidas, tiveram resultado positivo no teste de fervura. A crioscopia não diferiu entre os grupos 1 ( $\leq 70^\circ\text{GL}$ ) e 2 (72 a  $76^\circ\text{GL}$ ), sendo estes diferentes do grupo 3 ( $\geq 78^\circ\text{GL}$ ). Com os resultados obtidos, pode-se concluir que há uma alta incidência de LINA na região estudada (60,21%); e não há benefícios em termos de estabilidade térmica, pois apenas amostras ácidas coagularam no teste da fervura, o que demonstra a ineficiência em se aplicar o teste do etanol para estabelecer a resistência térmica do leite; e também não há ganhos na qualidade físico-química já que todas os parâmetros físico-químicos se mantiveram dentro dos padrões exigidos pela legislação ao se utilizar graduações maiores que  $>72^\circ\text{GL}$  na seleção de leite para indústria.

**Palavras-chave:** leite, estabilidade, características físico-químicas.

## **ABSTRACT**

*Background: The thermal stability of milk is of fundamental importance in the dairy industry, since most of the processes employed in beneficiation and processing of milk is achieved employing heat. In Brazil the test used to measure this stability is the stability test to ethanol, which according to the law should have minimum graduation of 72°GL. The goal of this study was to identify the physico-chemical differences between milks that had different degrees of stability to ethanol, to see if there are real advantages to exceed the limit of 72 °GL, required by law.*

*Material, Methods and Results: Between the months of January and March 2013 were collected from the reservoir tank trucks, 651 raw milk samples of a dairy located north of the State of Rio Grande do Sul. The samples were collected in receiving platform and were analyzed at a maximum of 6 hours after collection. It was evaluated with respect to milk stability ethanol (alcohol concentration was varied of 60 to 88 ° GL with intervals of 2 °GL), titratable acidity, resistance to boiling, pH, buffering capacity, chemical composition, and freezing point. The milk samples were divided with respect to the stability of the ethanol in 3 categories (stable alcohol concentration of less than 70 °GL, between 72 and 76° GL and GL greater than 78°). From the total, 398 (61.14 %) samples proved unstable at 72 °GL alcohol and of these, 6 had acidity above 18 °D, making in this way, 392 (60.21 %) milk samples characterized as unstable non-acid milk (UNAM). The data was analysed by the Kruskal-Wallis statistical test, which can identify if the extracts have different distribution functions.*

*Discussion: The stratified samples in Group 1 had Dornic acidity significantly higher than the other samples, with an average of 16.12°D. The overall average temperature measured was 10.5°C, a significant difference in medium temperature between group 1 and the other two groups. Group 1 showed average pH of 6.84, significantly different from the other 2 groups, where group 1 had the highest result, fat, protein and ESD showed significant differences among the 3 groups, we observed that the decrease of stability to ethanol increases the proportion of solids. The average lactose concentration was significantly higher in the strata of lower stability, with no significant change between groups 1 and 2. The cryoscopic index showed statistically different, the groups of lower stability to ethanol (1 and 2) did not develop this difference. The buffering capacity was not significantly different between groups, only samples that were identified as acidic, tested positive boil test. The freezing point did not differ between groups 1 (<70 ° GL) and 2 (72 to 76 ° GL), differing only on group 3 (> 78 ° GL). With the results, we can conclude that there is a high incidence of UNAM in the study area (60.21%); and no benefits in terms of thermal stability because only acid sample coagulated in the boiling test, which shows the ineffectiveness in applying the test to establish ethanol thermal resistance of milk; and there are no gains in physical-chemistry quality as all the physical and chemical parameters remained within the standards required by law when using higher grades than > 72 GL in the selection of milk for industry.*

**Key words:** milk, stability, physical-chemical characterization.

## **INTRODUÇÃO**

Estabilidade térmica é a capacidade que o leite tem de suportar elevadas temperaturas sem coagular ou geleificar [17]. Atualmente, com a utilização de processamentos térmicos a altas temperaturas, leites de baixa estabilidade ou resistência térmica podem levar a deposições insolúveis ou floculações nos equipamentos [20].

O teste de estabilidade ao etanol é amplamente utilizado pelas indústrias lácteas por ser uma forma simples, barata e eficiente para se avaliar a qualidade do leite com relação à estabilidade das proteínas nas unidades de produção leiteira [4, 5, 22]. A prova avalia a estabilidade das proteínas lácteas submetidas à desidratação provocada pelo álcool e é usada para estimar a estabilidade do leite quando submetido ao tratamento térmico [10].

A Instrução Normativa 62 [3], define como critério inicial de aceitação do leite pela indústria, a realização do teste do álcool na concentração mínima de 72°GL, e acidez titulável entre 14 a 18°D.

Entretanto, as indústrias vêm aumentando a concentração de etanol na mistura alcoólica de 72°GL para 78°GL ou mais, o que, por sua vez, aumentou o número de resultados positivos ao teste, podendo penalizar especialmente os produtores de pequena produção. Isto se deve ao fato da indústria procurar leites com maior estabilidade térmica em função do crescimento da produção de leite em pó e leite UHT [7]. O presente estudo tem como objetivo identificar as diferenças físico-químicas entre leites apresentando diferentes graus de estabilidade ao etanol e dessa maneira, contribuir para elucidar se há vantagens reais em se utilizar concentrações alcoólicas maiores que a exigida pela legislação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Entre os meses de janeiro e março de 2013, foram coletadas, diretamente dos tanques dos caminhões transportadores de leite, 651 amostras de leite cru (alíquotas de 150mL), na

plataforma de recebimento em uma indústria de laticínios situada no norte do estado do Rio Grande do Sul.

O leite foi avaliado quanto a temperatura no momento da recepção, grau de estabilidade ao etanol, acidez titulável, resistência a fervura, pH [6]; e capacidade de tamponamento foi obtida pela diferença de pH após acidificação [21], resultado expresso pela diferença de pH após acidificação da amostra.

Todas as amostras eram analisadas no mesmo dia de sua coleta, com intervalo máximo, entre coleta e análise, de 6 horas, sendo mantidas em refrigeração até o momento da análise.

A estabilidade ao etanol foi definida como a graduação alcoólica máxima em que a amostra de leite não apresentou coagulação, através da mistura de partes iguais de leite e álcool. As graduações alcoólicas utilizadas foram de 60 a 88°GL, com intervalos de 2°GL.

A composição do leite foi determinada por método de ultrassom [19] e ponto de congelamento por crioscopia [2] no laboratório de qualidade da indústria.

Após a coleta dos dados, as amostras foram estratificadas em três categorias, quanto a sua estabilidade ao etanol:

- 1- Estabilidade  $\leq 70^{\circ}\text{GL}$ ;
- 2- Estabilidade entre  $72^{\circ}$  e  $76^{\circ}\text{GL}$ ;
- 3- Estabilidade  $\geq 78^{\circ}\text{GL}$ .

Os dados foram tratados pelo teste de Kruskal-Wallis e correlação de Pearson, com o software SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Para interpretação da correlação de Pearson, foram adotados o critério onde  $r = 0,10$  até  $0,30$  (fraco);  $r = 0,40$  até  $0,6$  (moderado);  $r = 0,70$  até  $1$  (forte) [6].

## **RESULTADOS**

A caracterização físico-química do leite avaliado está apresentada na tabela I. Os teores de acidez titulável, temperatura e pH foram diferentes significativamente entre os grupos de diferentes estabilidades ao etanol ( $P>0,05$ ), enquanto a capacidade de tamponamento não se apresentou diferente nos grupos ( $P<0,05$ ).

Das 651 amostras analisadas, 398 (61,14%) se mostraram instáveis ao álcool  $<72^{\circ}\text{GL}$  e foram classificadas no estrato 1. São consideradas fora dos padrões exigidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento [3], posto que, o leite cru deve apresentar-se estável no mínimo ao álcool  $72^{\circ}\text{G}$ . Destas amostras, apenas 6 (1,51%) apresentaram-se com acidez titulável superior a  $18^{\circ}\text{D}$  e por isso foram consideradas ácidas, de acordo com a legislação vigente [3]. As demais amostras do estrato 1 (98,49%) são classificadas como Leite Instável Não Ácido [23].

O leite com maior estabilidade ao etanol ( $>78^{\circ}\text{GL}$ ) apresentou temperatura de congelamento significativamente mais baixa que as demais amostras de leite ( $P>0,05$ ). Com relação à prova de fervura, apenas seis amostras coagularam e estavam entre as amostras de leite ácido (acidez titulável entre  $22$  e  $27^{\circ}$ ).

O índice crioscópico não diferiu entre os grupos 1 e 2, sendo estes diferentes do grupo 3 ( $P>0,05$ ).

A composição do leite, apresentada na tabela II, revela que os teores dos componentes do leite variaram significativamente ( $P<0,05$ ) entre os grupos. A quantidade (% m/v) de gordura, proteína e extrato seco desengordurado (ESD) foram significativamente diferentes entre todos os grupos, sendo maiores no estrato 1, intermediários no estrato 2 e menores no estrato 3. Os teores de lactose foram semelhantes nos estratos 1 e 2, e significativamente maiores que no estrato 3 ( $P>0,05$ ).

## **DISCUSSÃO**

O leite normal deve apresentar acidez titulável entre 14 e 18°D (ou 0,14-0,18 g de ácido láctico/100 mL de leite). Apenas 6 amostras se apresentaram ácidas ( $>18^{\circ}\text{D}$ ), sendo que as estratificadas no grupo de menor estabilidade ( $\leq 70^{\circ}\text{GL}$ ) apresentaram acidez Dornic significativamente maior ( $P < 0,05$ ) que nos outros estratos de estabilidade, com média de 16,12°D. As amostras de leite estratificadas nos dois outros grupos (72 a 76°GL e  $\geq 78^{\circ}\text{GL}$ ) não apresentaram teores de acidez significativamente diferentes.

De todas as amostras avaliadas, 392 (pertencentes ao estrato 1) são caracterizadas como LINA, representando 60,21% do total de amostras analisadas. No noroeste do Rio Grande do Sul foram analisadas 2.396 amostras, onde 55,2% destas foram caracterizadas como LINA [23], embora a graduação alcoólica utilizada tenha sido de 76°GL. No sul do Estado a ocorrência de LINA foi de 58% de 9.892 amostras analisadas [10], que também empregaram graduação alcoólica de 76°GL. Essas concentrações são próximas às utilizadas no teste realizado pelas indústrias receptoras de leite no Rio Grande Sul.

A temperatura em que o leite pode ser transportado, por caminhões isotérmicos, da propriedade até a indústria, é de 7°C [3], devendo obedecer a esse limite na chegada à plataforma. A média geral de temperatura aferida no leite de conjunto em cada tanque durante o experimento foi de 10,5°C; 44,94% estavam de acordo com a legislação, já a maioria das amostras (55,05%) exibiram temperatura acima dos 10°C. Houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) nas médias de temperatura entre o estrato 1 e os demais. O grupo 1 (de menor estabilidade ao álcool) exibiu a maior temperatura com 11,07°C em média; seguido pelo grupo 2 (de estabilidade intermediária) com 10,38°C; e finalmente pelo grupo 3 (de maior estabilidade ao álcool) com 10,04°C. Foi realizado o teste de correlação de *Pearson* para avaliar a interação entre temperatura e estabilidade ao álcool, o qual detectou correlação negativa fraca ( $r = -0,315$ ) entre estas variáveis. Também se testou uma possível relação entre temperatura e acidez, o qual identificou correlação positiva fraca entre essas variáveis ( $r$

=0,308).

O pH normal do leite pode variar de 6,6 a 6,8; valores abaixo desse intervalo estão relacionados a falhas na higiene da ordenha e/ou, na temperatura de armazenamento [18]. Conforme o apresentado na tabela 1, todos os grupos apresentaram pH médio superior a este intervalo, ou seja, leites com tendência a alcalinidade. O grupo 1 (de menor estabilidade) com pH em média de 6,84, apresentou diferença significativa em relação aos outros dois grupos, que entre si (grupo 2 e 3), não tiveram diferença significativa no pH. A diferença média entre o grupo 1 e os demais, foi de 0,05.

A gordura, a proteína e o ESD apresentaram variabilidade entre os 3 grupos. À medida que se observa um menor grau de estabilidade, observa-se o aumento dos teores de gordura, proteína e ESD.

Maiores teores de gordura foram detectados nas amostras com menores estabilidades ao álcool. As amostras estratificadas com estabilidade  $\leq 70^\circ\text{GL}$  apresentaram média de 3,88% de gordura, enquanto que os demais apresentaram 3,81% e 3,67% respectivamente para os leites de estabilidade entre 72 a 76, e  $\geq 78^\circ\text{GL}$ . Tais resultados corroboram com os relatados por outros autores, aonde a percentagem de gordura encontrada, foi maior em leites menos estáveis ao álcool [9,10,11,12]. Em Cuba não foi detectada diferença significativa nos teores de gordura entre leite com estabilidade normal e leite instável [16].

O teor de proteína também foi mais baixo em amostras com maior estabilidade ao etanol. A média percentual de proteína bruta nas amostras de menor estabilidade ( $\leq 70^\circ\text{GL}$ ) foi de 3,06%; com diferença de 0,02% para o grupo intermediário (72 a 76 $^\circ\text{GL}$ ); e 0,05% em comparação com o extrato de maior estabilidade ao álcool ( $\leq 78^\circ\text{GL}$ ). A amplitude da variação de proteína no leite é muito menor, enquanto a gordura pode variar de 2 a 3 pontos percentuais, a proteína dificilmente varia mais que 0,3 a 0,4 unidades percentuais, sendo mais frequentes variações de 0,1 a 0,2%.

De modo contrário, outros trabalhos [9,10,11,12,16,] relataram maior percentagem de proteína em leites com maior estabilidade ao álcool em relação a leites instáveis. Em Campinas do Sul –RS não foi encontrada diferença significativa no teor proteico entre leite estável e instável [8].

A concentração média de lactose foi significativamente superior nos extratos de menor estabilidade, entretanto, não houve diferença significativa entre os estratos 1 ( $\leq 70^\circ\text{GL}$ ) e 2 (72 a  $76^\circ\text{GL}$ ), que tiveram uma média de 4,86%. Já o estrato 3, de maior estabilidade ao álcool, apresentou uma diferença de 0,05% a menos, quando comparada à média dos 2 outros estratos. Resultados contrários aos encontrados em outros trabalhos [8,9,10,11,12,16], aonde as percentagens de lactose foram maiores nas amostras de leite com maior estabilidade ao álcool. A lactose é o componente do leite que apresenta menor amplitude de variação, que se deve ao fato de estar relacionada à regulação da pressão osmótica na glândula mamária, de forma que maior produção de lactose determina maior produção de leite, com o mesmo teor de lactose [14].

Os valores de extrato seco desengordurado apresentaram diferença significativa entre os grupos, com maiores percentagens nos extratos de menor estabilidade. Resultados contrários aos dos encontrados em Campinas do Sul- RS [8] e em Casa Branca- SP [9] aonde os resultados de ESD foram maiores em leites estáveis.

O índice crioscópico se mostrou diferente estatisticamente, sendo que nos estratos de menor estabilidade ao álcool (1 e 2) não se obteve essa diferença, com média de  $-0,535^\circ\text{H}$ , a variabilidade se deu desses dois grupos para com o grupo 3, de maior estabilidade, que exibiu média de  $-0,538^\circ\text{H}$ , ou seja, a medida que a estabilidade aumenta, diminui a temperatura de congelamento do leite. Em Cuba [15] foi detectado aumento da temperatura de congelamento em leites com menor estabilidade ao etanol. Já em Campinas do Sul- RS [8] não foi detectada diferença significativa entre leite estável e instável.

## CONCLUSÃO

Há uma alta incidência de leite instável não ácido (LINA) na região estudada, esta generalização é possível pois toda a produção leiteira comercial de dois municípios é captada apenas pela fábrica de laticínios em questão.

Os valores de temperatura, acidez e pH das amostras com estabilidade menor ou igual a 70°GL foram maiores significativamente dos demais estratos com estabilidade acima de 70°GL. A capacidade de tamponamento não se mostrou diferente significativamente entre os estratos.

A composição de sólidos diferiu significativamente entre todos os estratos, com maior teor de ESD, gordura e proteína entre as amostras menos estáveis ao etanol.

Não há evidências de que aumentar a graduação alcoólica no teste do etanol, selecionará leite de maior estabilidade térmica, já que apenas as amostras ácidas coagularam no teste da fervura.

Todos os leites com estabilidade ao etanol >72°GL apresentaram-se de acordo com o exigido pela legislação brasileira, não sendo possível inferir sobre sua melhor qualidade.

## REFERÊNCIAS

- 1 Barros L. 2001.** Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: González, F.H.D.; Dürr, J.W.; Fontaneli, R.S. (Ed.). *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: UFGRS. 46-60. [Fonte: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26656/000308502.pdf?sequence=1>>]
- 2 Brasil. 2006.** Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n°68. [Fonte: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>>]
- 3 Brasil. 2011.** Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento Instrução Normativa n°62, de 29 de dezembro de 2011. *Instrução Normativa n°62*. [Fonte: <<http://www.leitebrasil.org.br/legislacao.htm>>]
- 4 Botaro B. G., Lima Y.V.R., Aquino A.A., Fernandes R.H.R., Garcia J.F., Santos M.V. 2007.** Polimorfismo da beta-lactoglobulina não afeta as características físico-químicas e a estabilidade do leite bovino. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 42:747-753. [Fonte: <<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/7626/4545>>].
- 5 Chavez M.S., Negri L.M., Taverna M.A., Cuatrín A. 2004.** *Bovine Milk composition parameters affecting the ethanol stability*. *Journal of Dairy Reserch*. 71:201-206. [Fonte: <<http://www.aseanfood.info/Articles/11020675.pdf>>].
- 6 Dancey C., Reidy J. 2005.** *Estatística sem matemática para psicologia: Usando SPSS para Windows*. Porto Alegre, Artmed.
- 7 Fischer V.; Ribeiro M.E.R.; Zanella M.B.; Marques L.T.; Abreu A.S.; 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). [Fonte: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-99402012000300021&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-99402012000300021&script=sci_arttext)>].

**8 Fruscalso V. 2007.** *Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência do Leite Instável Não Ácido.* 134p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. [Fonte: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/12440>>].

**9 Lopes L. 2008.** *Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, Estado de São Paulo.* 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade de São Paulo. [Fonte: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-29042008-103024/pt-br.php>>].

**10 Marques L.T., Zanella M.B., Ribeiro M.E., Stumpf Jr. 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 Agrociência, 13(1):91-97. [Fonte: <<http://www2.ufpel.edu.br/faem/agrociencia/v13n1/artigo14.htm>>].

**11 Oliveira C.A.F. 2011.** *Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil.* Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 12(2):508-515. [Fonte: <<http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/1909/1119>>].

**12 Oliveira D.S. & Timm C.D. 2006.** *Composição do leite com instabilidade da caseína.* Ciência e tecnologia de alimentos, 26(2):259-263. [Fonte: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612006000200005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612006000200005&script=sci_arttext)>].

**13 Oliveira S.D., Moraes C.M., Roos T.B., Bermudes R.F., Timm C.D..2007.** *Ocorrência de leite com instabilidade da caseína em Santa Vitória do Palmar, RS.* Revista Brasileira de Ciência Veterinária. 14(2):101-104. [Fonte: <<http://www.uff.br/rbcv/ojs/index.php/rbcv/article/view/426/247>>].

**14 Peres Jr. J.R. 2001.** *O leite como ferramenta do monitoramento nutricional.* In: González,

F. H. D. et al. (Ed.). Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. 44-57.

**15 Ponce P.C; Hernández R. 2001.** *Propriedades Físico-químicas do Leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária.* In: González, F.H.D.; Dürr, J.W.; Fontaneli, R.S. (Ed.). Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: UFRGS, 2001. 58-68. [Fonte: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26656/000308502.pdf?sequence=1>>].

**16 Ponce P.C.; Hernández R. 2005.** *Efecto de três tipos de dieta sobre La aparición de transtornos metabólicos y su relación com alteraciones em La composición de La leche em vacas Holstein Friesan.* Zootecnia Tropical, 23(3):295-310.

**17 Singh H. 2004.** *Heat Stability of Milk.* International Journal of Dairy Technology. 57(2/3):111-119. [Fonte: < <http://www.aseanfood.info/Articles/11025207.pdf>>].

**18 Tronco, V. M. 2010.** *Manual para inspeção da qualidade do leite.* 4.ed. Santa Maria: UFSM.

**19 Venturoso R.C. 2007.** Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultrassom. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 43(4):607-613. [Fonte: < [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322007000400014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322007000400014&script=sci_arttext)>].

**20 Viero, V. 2008.** *Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido.* 91f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. [Fonte: < <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/14336>>].

**21 Yingqun N., Chen B.Y., Aikman P., Grandison A., Lewis M. 2012.** *Naturally occurring variations in milk pH and ionic calcium and their effects on some properties and processing characteristics of milk.* International Journal of Dairy Technology, 65(4):490-497.

**22 Zanella M. B., Fischer V., Ribeiro M.E.R., Barbosa R.S., Marques L.T., Stumpf Jr. W., Zanela C. 2006.** *Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar.* Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 41:835-840. [Fonte: <  
[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2006000500016&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2006000500016&script=sci_arttext)>].

**23 Zanella, M.B, Ribeiro M.E.R., Fischer V., Gomes J.F., Stumpf Jr. W. 2009.** *Ocorrência de leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul.* Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 61(4):1009-1013. [Fonte: <  
[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352009000400035&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352009000400035&script=sci_arttext)>].

Tabela I - Número de amostras por categoria de estabilidade ao etanol (°GL) e valores médios e desvios padrão da temperatura no recebimento, acidez titulável (°D), tamponamento, pH e índice crioscópico do leite cru de conjunto recebido em uma Fábrica de Laticínios, situada no norte do estado do Rio Grande do Sul.

Categoria	1 ( $\leq 70^{\circ}\text{GL}$ )	2 (72-76°GL)	3 ( $\geq 78^{\circ}\text{GL}$ )
Amostras	398	196	57
Temperatura (°C)	11,07 <sup>a</sup> ±1,60	10,38 <sup>b</sup> ±1,30	10,04 <sup>b</sup> ±1,01
Acidez (°D)	16,12 <sup>a</sup> ±1,67	14,99 <sup>b</sup> ±0,80	14,81 <sup>b</sup> ±1,09
Tamponamento	1,17 ±0,19	1,14 ±0,16	1,19 ±0,17
pH	6,84 <sup>a</sup> ±0,14	6,90 <sup>b</sup> ±0,11	6,89 <sup>b</sup> ±0,11
Crioscopia (°H)	-0,536 <sup>a</sup> ±0,049	-0,535 <sup>a</sup> ±0,003	-0,538 <sup>b</sup> ±0,004

<sup>a</sup>Valores com sobrescritos diferentes em uma mesma linha são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de *Kruskal-Wallis* ( $P < 0,05$ ).

Tabela II - Valores médios e desvios padrão da composição centesimal e índice crioscópico por grau de estabilidade ao etanol, do leite cru de conjunto recebido em uma fábrica de laticínios situada no norte do estado do Rio Grande do Sul.

Categoria	1 ( $\leq 70^{\circ}\text{GL}$ )	2 (72-76°GL)	3 ( $\geq 78^{\circ}\text{GL}$ )
Gordura	3,88 <sup>a</sup> ±0,27	3,81 <sup>b</sup> ±0,25	3,67 <sup>c</sup> ±0,198
Proteína (%)	3,06 <sup>a</sup> ±0,79	3,04 <sup>b</sup> ±0,06	3,01 <sup>c</sup> ±0,56
Lactose (%)	4,87 <sup>a</sup> ±0,10	4,85 <sup>a</sup> ±0,77	4,81 <sup>b</sup> ±0,08
ESD (%)	8,58 <sup>a</sup> ±0,14	8,52 <sup>b</sup> ±0,77	8,46 <sup>c</sup> ±0,14

<sup>a</sup>Valores com sobrescritos diferentes em uma mesma linha são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de *Kruskal-Wallis* ( $P < 0,05$ ).

## 7. CONCLUSÕES

Há uma alta incidência de LINA na região estudada, esta generalização é possível, pois toda a produção leiteira comercial dos dois municípios é captada apenas pela fábrica de laticínios em questão. Não houve perda da qualidade físico-química no LINA em relação ao leite normal, pois todos os parâmetros avaliados no estudo estavam de acordo com o exigido pela legislação brasileira.

Não há evidências de que aumentar a graduação alcoólica no teste do etanol, selecionará leite de maior estabilidade térmica, já que apenas as amostras ácidas coagularam no teste da fervura. Também não há ganho na qualidade físico-química em leites com estabilidade  $>72^{\circ}\text{GL}$  pois, os parâmetros físico-químicos de todas as amostras se mantiveram dentro do exigido pela legislação brasileira.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, P.F.; PEDROSO, A.F.; NOVO, A.L.M.; RODRIGUES, A.A.; CAMARGO, A.C.; POTT, E.B.; SCHIFFLER, E.A.; AFONSO, E.; OLIVEIRA, M.C.S.; TUPY, O.; BARBOSA, R.T.; LIMA, V.M.B. **Importância Econômica**. Embrapa Gado de Leite, 2002.

BARROS, L.; DENIS, N.; GONZÁLEZ, O.; GALAIN, C. Prueba del Alcohol em Leche y Relación com Calcio iónico. **Prácticas Veterinarias**, n.9, p.13-15, 1999.

BEHMER, M.L.A. Tecnologia do Leite. 10.ed. São Paulo: Nobel. 322 p. 1980.

BOTARO, B.G. **Variantes Genéticas de Beta-lactoglobulina em Vacas Leiteiras e Características Físico-químicas e de Composição do Leite**. 2007. 74f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

BRASIL. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF. Seção 1, p.8. 2006.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado e de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF. Seção 1, p.6, 2011.

BRASIL. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão Estratégica, p.96, 2013.

BREITENBACH, R.; SOUZA, R.S. Caracterização de Mercado e Estrutura de Governança na Cadeia Produtiva do Leite na Região Noroeste do Rio Grande do Sul. **Organizações Rurais e Agroindustriais**, v. 13, n. 1, p. 77-92, 2011.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F. **Qualidade do Leite**. Disponível em:  
<[http://fernandomadalena.com/site\\_arquivos/903.pdf](http://fernandomadalena.com/site_arquivos/903.pdf)>. Acessado em: 09 nov. 2013.

CHAVEZ, M.S.; NEGRI, L.M.; TAVERNA, M.A.; CUATRÍN, A. Bovine Milk Composition Parameters Affecting the Ethanol Stability. **Journal of Dairy Research**, n.71, p.201-206, 2004.

COTRINO, V.; GAVIRIA, B.C. **¿Cómo se Determina la Calidad Microbiológica de la Leche Cruda?**. 2003. Disponível em:  
<<http://66.147.240.184/~ganader1/articulos/?seccion=ver&categoria=manejo&nda=man039>>. Acessado em: 09 nov. 2013.

CREAMER, L.K.; PLOWMAN, J.E.; LIDDELL, M.J.; SMITH, M.H.; HILL, J.P. Micelle Stability:  $\kappa$ -Casein Structure and Function. **Journal of Dairy Science**, n.81, p.3004-3012, 1998.

DÜRR, J.W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DÜRR, J.W. et al. (Ed.). O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo: UPF, 2004. 331p.

EARLY, R. **Tecnología de los Productos Lácteos**. Zaragoza: Acribia, ed. 2, p. 459, 2000.

FAGUNDES, H. **Ocorrência de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* H157:O7 em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo**. 2007. 107p. Tese (Doutor em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

FARRELL Jr, H.M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G.T.; BROWN, E.M.; BUTLER, J.E.; CREAMER, L.K.; HICKS, C.L.; HOLLAR, C.M.; NG-KWAI-HANG, K.F.; SWAISGOOD, H.E. Nomenclature of the Proteins of Cow's Milk – Sixth Revision. **Journal of Food Science**, n.87, p.1641-1674, 2004.

FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; ZANELA, M.B.; MARQUES, L.T.; ABREU, A.S.; MACHADO, S.C.; FRUSCALSO, V.; BARBOSA, R.S.; STUMPF, M.T. Leite Instável Não Ácido: um Problema Solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p.838-849, 2012.

FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. 1.ed, 1998.

GALVÃO JÚNIOR, J.G.B.; RANGEL, A.H.N., MEDEIROS, H.R., SILVA, J.B.A., AGUIAR, E.M., MADRUGA, R.C., LIMA JÚNIOR, D.M. Efeito da Produção Diária e da Ordem de Parto na Composição Físico-Química do Leite de Vacas de Raças Zebuínas. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 1, p.25-30, 2010.

GUERREIRO, P.K.; MACHADO, M.R.F.; BRAGA, G.C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A.S.M. Qualidade Microbiológica do Leite em Função de Técnicas Profiláticas no Manejo de Produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.1, p.216-222, 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal – 2012**. 2013. Disponível em: <[www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acessado em: 9 nov. 2013.

KIRCHOF, B. Bovinos de Leite – EMATER/RS. 201?. Disponível em: <<http://www.emater.tche.br/site/area/bovinocultura.php#responsavel>>. Acessado em: 9 nov. 2013.

LOPES, L.C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, Estado de São Paulo**. 2008. 63f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

LUCEY, J.A.; GORRY, C.; FOX, P.F. Acid-base Buffering Properties of Heated Milk. **Milchwissenschaft – Milk Science International**, v.48, n.8, p.438-441, 1993.

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. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.1, p.91-97, 2007.

MARX, I.G.; LAZZAROTTO, T.C.; DRUNKLER, D.A.; COLLA, E. Ocorrência de Leite Instável Não Ácido na Região Oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.13, n.1, 2011.

MOLINA, L.H.; GONZÁLEZ, R.; BRITO, C.; CARRILLO, B.; PINTO, M. Correlacion entre la Termoestabilidad y Prueba de Alcohol de la Leche a Nivel de um Centro de Acopio Lechero. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.33, n.2, 2001

O'CONNELL, J.E.; KELLY, A.L.; FOX, P.F.; KRUIF, K.G. Mechanism for the Ethanol-Dependent Heat-Induced Dissociation of Casein Micelles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.49, p.4424-4428, 2001.

O'CONNELL, J.E.; SARACINO, P.; HUPPERTZ, T.; UNIAKE, T.; KRUIF, C.G.; KELLY, A.L.; FOX, P.F. Influence of Ethanol on the Rennet-induced coagulation of Milk. **Journal of Dairy Research**, n.73, p.312-317, 2006.

OLIVEIRA, D., TIMM, C.D. Composição do Leite com Instabilidade da Caseína. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n.2, p.259-263, 2006.

PELCZAR JR, M.J.; CHAN, E.C.S; KRIEG, N.R. **Microbiologia: Conceitos e aplicações**. v.2, 2.ed. São Paulo: Person Education, 1997.

PERES, J.R. O Leite Como Ferramenta do Monitoramento Nutricional. In: GANZÁLEZ, H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. **Uso do Leite para Monitorar a Nutrição e o Metabolismo de Vacas Leiteiras**, 2001.

PINNA, M.H.; LIZIEIRE, R.S. Leite com Qualidade. **Revista CFMV – Suplemento Técnico**, n.21, 2000.

PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETTI, M.C.D. Qualidade Microbiológica do Leite Cru Refrigerado e Isolamento de Bactérias Psicrotólicas Proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3, p.645-651, 2006.

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

ROMA Jr, L.C.; ZAGO, C.A.; RODRIGUES, A.C.O.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F. **Estudo da Proteína do Leite em Termos de Qualidade e Quantidade**. Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p044.pdf>>. Acessado em: 09 nov. 2013.

RUBEZ, J. **O leite nos últimos 10 anos**. 2003. Disponível em: <[http://www.leitebrasil.org.br/artigos/jrubez\\_093.htm](http://www.leitebrasil.org.br/artigos/jrubez_093.htm)>. Acessado em: 04 nov. 2013.

SALAÜN, F.; MIETTON, B.; GAUCHERON, F. Buffering Capacity of Dairy Products. **International Dairy Journal**, n.15, p.95-109, 2005.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1.ed. Barueri: Manole, 2007.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Qualidade Microbiológica do leite: Métodos de Análise e Estratégias de Controle. Curso Online: Monitoramento da Qualidade do Leite. 2009. Disponível em: <[http://paraiso.ifto.edu.br/docente/admin/upload/docs\\_upload/material\\_26df0a43b5.pdf](http://paraiso.ifto.edu.br/docente/admin/upload/docs_upload/material_26df0a43b5.pdf)>. Acessado em: 09 nov. 2009.

SILVA, L.C.C.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; YAMADA, A.K.; GIOMBELLI, C.J.; SILVA, M.R. Estabilidade Térmica da Caseína e Estabilidade ao Álcool 68, 72, 75 e 78%, em Leite Bovino. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, n.384, p.55-60, 2012.

SILVA, M.C.D.; SILVA, J.V.L.; RAMOS, A.C.S.; MELO, R.O.; OLIVEIRA, J.O. Caracterização Microbiológica e Físico-química de Leite Pasteurizado Destinado ao Programa do Leite no Estado de Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p.226-230, 2008.

SIMÕES, A.R.P; OLIVEIRA, M.V.M. **Vantagens comparativas do Brasil na produção de leite**. 48º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2010.

SINGH, H. Heat Stability of Milk. **International Journal of Dairy Technology**, v.57, n.2/3, p.111-117, 2004.

SIQUEIRA, K.B.; PINHO, M.C.; MERCÊS, E.S. **O que comanda o crescimento da produção de leite no Brasil?**. Panorama do Leite – Embrapa Gado de Leite, n. 77, 2013.

VENTURINI, K.S.; SARCINELLI, M.F.; SILVA, L.C. Características do Leite. Disponível em: <[http://www.agais.com/telomc/b01007\\_caracteristicas\\_leite.pdf](http://www.agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf)>. Acessado em: 09 nov. 2013.

WALSTRA, P.; et al. **Ciencia de la Leche y Tecnología de los Productos Lácteos**. Zaragoza: Acribia, p.730, 2001.

ZANELA, M.B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; BARBOSA, R.S.; MARQUES, L.T.; STUMPF Jr, 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.835-840, 2006.

ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; FISCHER, V.; GOMES, J.F.; STUMPF Jr, W. Ocorrência de 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.