

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

JÉSSICA MARIA FRANÇA

ANÁLISE DA ESTABILIDADE DO LEITE NAS ESTAÇÕES DO VERÃO E INVERNO

PONTA GROSSA
2022

JÉSSICA MARIA FRANÇA

ANÁLISE DA ESTABILIDADE DO LEITE NAS ESTAÇÕES DO VERÃO E INVERNO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para a obtenção do título de Bacharelado em Zootecnia na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Ciências Agrárias e Tecnologia.

Orientador (a): Prof^ª Dr^ª Adriana de Souza Martins

Coorientador (a): Fernanda Antunes Martins

PONTA GROSSA

2022

JÉSSICA MARIA FRANÇA

ANÁLISE DA ESTABILIDADE DO LEITE NAS ESTAÇÕES DO VERÃO E INVERNO

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para obtenção do título de Bacharelado em Zootecnia na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Ciências Agrárias e Tecnologia.

Ponta Grossa, ____ de _____ de _____.

Profª. Dra. Adriana de Souza Martins – Orientadora

Doutora em Zootecnia – Produção Animal

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Prof. Dr. Guilherme de Almeida Souza Tedrus

Doutorado em Tecnologia de Alimentos

Universidade Estadual de Campinas

Profª Dra Luciana da Silva Leal Karolewski

Doutorado em Medicina Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

Dedico aos meus pais, Angela e Joélio e ao meu companheiro de vida Djoni.

AGRADECIMENTOS

À Deus e a Nossa Senhora Aparecida, a fé durante muitos dias foi sustento, alívio e acalento em meio ao caos e escuridão.

Aos meus pais Angela e Joélio, por me oferecerem todo suporte e apoio durante a graduação, por segurarem minha mão, nada seria possível sem vocês, devo muito mais que a vida a vocês, a realização desse sonho é por vocês.

Ao amor da minha vida, Djoni a sua compreensão, seu apoio e confiança em minha capacidade foram essenciais para que eu não desistisse, obrigada por aceitar o desafio de compartilhar essa reta final da minha vida acadêmica ao meu lado, eu te amo.

À Prof^a. Dr^a. Adriana de Souza Martins, primeiramente pela oportunidade em meio a pandemia, por repassar conhecimento e sabedoria, e principalmente me orientar sobre a elaboração do TCC, cada sugestão se apresentava para mim como uma nova oportunidade de aprendizagem.

À Fernanda Antunes Martins, pelo acolhimento no laboratório, por todos os ensinamentos repassados, estendo o agradecimento a toda equipe do projeto, pela companhia nas longas horas de análises, e colaboração de todos a esse projeto, doando seu conhecimento e tempo

À minha amiga Elaine Alaides Eidam, presente que a Zootecnia me proporcionou, minha dupla, obrigada por todos os trabalhos, por não poupar esforços em me fazer acreditar no nosso potencial e principalmente por sua amizade ir muito além dos muros da universidade.

À minhas amigas Anna, Bianca, Lorena e Priscila, sem vocês a vida acadêmica por muitas vezes teria se tornado insustentável, obrigada por me proporcionarem tantos motivos para orgulho.

Enfim, a todos professores, funcionários, colegas e familiares que de alguma forma contribuíram para que um dos meus maiores sonhos fosse possível.

O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.

(Robert Collier)

RESUMO

A qualidade do leite é um termo que faz referência a uma série de características que podem afetar o valor nutricional, rendimento e segurança dos derivados lácteos produzidos a partir desta matéria prima, e é avaliada por parâmetros físico-químicos e de composição. O objetivo do experimento foi avaliar a estabilidade do leite ao etanol e qual a sua relação com as características físico-químicas do leite nas estações de verão e inverno. Para isso foram utilizadas amostras do tanque de resfriamento de produtores em parceria com a indústria Lactalis do Brasil em duas estações do ano: verão e inverno, e analisadas nas instalações e equipamentos do Centro Mesorregional de Excelência em Tecnologia do Leite (CMETL), pertencente a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). As análises realizadas foram: teste do etanol, acidez titulável e de composição. Não foram encontradas diferenças significativas nos teores de proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado nas amostras de leite entre as estações do ano analisadas. Observou-se diferença significativa entre as estações de verão e inverno nos parâmetros de estabilidade sendo o leite mais instável observado durante o inverno, a maior acidez foi durante a estação do verão podendo ser associada ao período de menor estabilidade, o cálcio iônico apresentou uma correlação negativa com a estabilidade do leite, sendo as maiores concentrações de cálcio durante os períodos de menor estabilidade, a gordura apresentou maiores teores durante o inverno, período de maior estabilidade do leite.

Palavras-chave: Acidez titulável, Cálcio Iônico, Gordura, Qualidade do leite.

ABSTRACT

Milk quality is a term that refers to a series of characteristics that can affect the nutritional value, yield and safety of dairy products produced from this raw material and is evaluated by physicochemical and compositional parameters. The objective of the experiment was to evaluate the stability of milk to ethanol and what is its relationship with the physicochemical characteristics of milk in the summer and winter seasons. For this, samples from the cooling tank of producers in partnership with the Lactalis industry of Brazil in two seasons of the year were used: summer and winter and analyzed in the facilities and equipment of the Mesoregional Center for Excellence in Milk Technology (CMETL), belonging to the State University of Ponta Grossa (UEPG). The analyzes performed were: test the ethanol in the concentrations, titratable acidity and composition. No significant differences were found in the levels of protein, lactose, total solids and defatted dry extract. There was a significant difference between the summer and winter seasons in the stability parameters, with milk being more unstable during the winter, the highest acidity was during the summer season, which may be associated with the period of lower stability, ionic calcium showed a correlation negative with the stability of milk, with the highest concentrations of calcium during the periods of lower stability, the fat showed higher levels during the winter, period of greater stability of the milk.

Keywords: Titratable acidity, Ionic calcium, Fat, Milk quality.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias e desvio-padrão (DP) de estabilidade do leite ao etanol (v/v) e teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado (ESD) e teor de cálcio iônico no leite de vacas nas estações de verão e inverno	16
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CS	Células somáticas
CCS	Contagem de células somáticas
CMETL	Centro Mesorregional de Excelência em Tecnologia do Leite
CPP	Contagem Padrão em Placas
ESD	Extrato Seco Desengordurado
IN	Instrução Normativa
LINA	Leite Instável Não Ácido
NaOH	Hidróxido de Sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNQL	Programa Nacional de Qualidade do Leite
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UFC	Unidade Formadoras de Colônia
UHT	<i>Ultra High Temperature</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	111
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4. CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	20

1. INTRODUÇÃO

De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), o leite é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2017). Contendo nutrientes importantes como proteína, gordura, lactose, minerais e vitaminas que juntos compreendem os sólidos do leite (ZANELA *et al.*, 2011). Sendo um dos alimentos mais consumidos mundialmente, na forma *in natura* ou como derivados, a recomendação da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre o consumo é de no mínimo 200 litros por pessoa durante o ano, atualmente em média são consumidos cerca de 116,5 kg de produtos lácteos por habitante ao ano, desses 44,4 litros são de leite fluido (GDP, 2017). No Brasil o consumo de produtos lácteos como um todo é de cerca de 172 litros por habitante ao ano, desses cerca de 53 litros correspondem ao leite fluido (ABVL, 2021).

O leite bovino normalmente contém cerca de 3,0 a 3,5% de proteína, que são fontes naturais de aminoácidos essenciais aos mamíferos, também funciona como veículo natural de micronutrientes essenciais como cálcio e fósforo. Há duas grandes classes onde se dividem as proteínas, que são as caseínas e as proteínas do soro (BRASIL *et al.*, 2015). As caseínas representam 80% das proteínas do leite, e são classificadas em quatro subgrupos principais, α_1 , α_2 , β e κ , todas fosfoproteínas sintetizadas nas células epiteliais da glândula mamária e secretadas na forma de micelas (NEVES, 2021).

A gordura é o sólido do leite que possui maior variabilidade, podendo variar de 2,2 a 4%, pois sofre impactos de aspectos como a genética do animal, ou fatores ambientais como manejo de trato, o número de tratos estimula o consumo afetando esse componente e a alimentação animal, por exemplo o aumento de fontes de gordura insaturada degradáveis no rúmen. O perfil de gordura presente no leite de vaca é composto por triglicerídeos, fosfolipídios e esteróis, e fazem parte dos fatores que determinam a quantidade de energia que será direcionada a produção pelo animal (AZAMBUJA, 2018). A gordura do leite serve como veículo, para substâncias como o colesterol e vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), além dos carotenoides que conferem a coloração do leite, cor amarelo-creme (EMBRAPA, 2021).

A qualidade do leite é um termo que faz referência a uma série de características que podem afetar o valor nutricional, rendimento e segurança dos derivados lácteos produzidos a partir desta matéria prima (ZANELA *et al.*, 2015). Para regulamentar a produção de leite no país, especificar padrões de identidade e qualidade do leite cru refrigerado, pasteurizado e do tipo A, o Programa Nacional de Qualidade do Leite (PNQL) por meio da Instrução Normativa (IN) de nº

76/77 de 26 de novembro de 2018, estabeleceu normas de produção e padrões físico-químicos do leite (BRASIL, 2018).

A IN nº 76 estabelece alguns parâmetros físico-químicos: acidez titulável entre 0,14 e 0,18 g de ácido láctico/100mL, estabilidade ao alizarol na concentração mínima de 72% v/v, densidade relativa entre 1,028 e 1,034 g/mL, índice crioscópico entre -0,530 °H e -0,555 °H, contagem de células somáticas (CCS) de no máximo 500.000 CS/mL e contagem padrão em placas (CPP) de no máximo 300.000 UFC/mL (BRASIL, 2018).

A estabilidade térmica do leite refere-se à resistência relativa do leite ao suportar o tratamento térmico industrial ou concentrações mínimas de etanol, sem sofrer coagulação (BRASIL *et al.*, 2015). Podendo ser definida também como a capacidade que o leite tem de suportar altas temperaturas, o que poderá indicar o quanto a adaptação das proteínas com os demais elementos do leite, podem impedir a associação destas proteínas e, por isto, a não formação de grumos, o que por consequência determina a estabilidade do leite (WALSTRA; JENNESS, 1984).

A estabilidade está dentro dos parâmetros de qualidade exigidos pela legislação, e dentre os muitos testes realizados na avaliação de qualidade do leite, um dos mais utilizados é a prova do álcool, onde é avaliada a estabilidade das proteínas lácteas submetidas a desidratação provocada pelo álcool e é utilizada para estimar a estabilidade do leite quando submetido ao tratamento térmico, caso o leite venha a precipitar, o resultado é positivo e o leite é classificado como instável (MARQUES *et al.*, 2007).

O leite instável, muitas vezes é interpretado de forma errônea como ácido, porém a maioria das amostras que coagulam, quando passam por testes específicos como pH ou acidez titulável, apresentam resultados normais de acidez (ROSA *et al.*, 2017). No entanto, cerca de 40 a 50% das amostras de leite testadas, apresentam acidez dentro dos valores aceitáveis, mesmo precipitando no teste do álcool, e o produtor acaba sendo prejudicado e o leite descartado pelas indústrias (OLIVEIRA, *et al.*, 2011). Este leite, que precipita no teste do álcool, porém apresenta acidez titulável abaixo de 0,18 g de ácido láctico é denominado leite instável não ácido (LINA), que é um problema que acomete rebanhos leiteiros como demonstrado em Marques *et al.* (2007), Zanela *et al.* (2009) e Oliveira *et al.* (2011).

As causas desta alteração ainda não estão totalmente claras (ZANELA, *et al.*, 2009), sendo de origem complexa e multifatorial, existindo várias possibilidades que possam dar origem a instabilidade (FAGNANI, *et al.*, 2017). Zanela *et al.* (2015) afirmaram que vários fatores podem interferir na qualidade do leite e sua estabilidade, como fatores genéticos dentre eles a espécie, raça do animal e sua própria individualidade, fatores intrínsecos como o tempo de lactação do animal que apresentam menor estabilidade durante a fase inicial da lactação, a idade, o estágio e número

de lactações, fatores nutricionais, ou seja, o tipo e disponibilidade de alimento, forma de conservação e adequação da dieta às exigências dos animais, fatores ambientais incluem estresse, estações do ano, manejo, e fatores extrínsecos como a sanidade, contaminação bacteriana do ambiente.

A estabilidade das proteínas quando enfrentam o processamento térmico é uma questão importante para indústrias, principalmente se tratando da fabricação de produtos que sofrem processos térmicos sobre elevada temperatura. (MARTINS *et al.*, 2015). As micelas de caseínas possuem grupamentos ácidos e básicos, com uma predominância de ácidos sobre os grupos aminos, portanto, a carga resultante é negativa, o que gera uma repulsa entre as micelas, impedindo a agregação das mesmas (BELOTI, 2015). Portanto, quanto as amostras de leite coagulam na prova do álcool, indica que a estabilidade da estrutura micelar é fraca, podendo ocorrer devido a fatores como acidez ou desequilíbrios no sistema (MARTINS *et al.*, 2015). As micelas de caseína são responsáveis juntamente com os glóbulos de gordura, pela consistência e cor dos produtos derivados do leite, e as micelas quando unidas com o fosfato de cálcio coloidal se tornam responsáveis também pelas estabilidades ao calor e ao etanol do leite (AZAMBUJA, 2018).

Quando utilizado o leite instável como matéria prima, pode ocasionar menores rendimentos no processo de industrialização, pelo fato desse tipo de leite apresentar menores teores de lactose, proteína, e em alguns casos, gordura (FISCHER *et al.*, 2011). O leite instável também pode sofrer precipitação quando passa pelo processo *Ultra High Temperature* (UHT), aderindo-se aos equipamentos, ocasionando altos custos com limpeza e aumento do descarte do leite (ROSA, *et al.*, 2017).

Diante dos prejuízos causados ao produtor e para a indústria, a análise dos casos de instabilidade e os fatores relacionados são importantes para a definição de estratégias que visem aumentar a qualidade do leite, requisito fundamental para uma das maiores bacias leiteiras do país. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivos avaliar o nível de estabilidade do leite ao etanol e sua relação com as características físico-químicas do leite nas estações do verão e inverno.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em parceria com a indústria Lactalis do Brasil, a qual possui unidades industriais na região dos Campos Gerais do Paraná. Em 2021, foram coletadas amostras de leite do tanque de resfriamento de 217 produtores, em duas estações do ano: verão e inverno, as análises eram semanais ou a cada quinzena

de mês, com uma média de 50 a 100 amostras. Os municípios de coleta do leite foram: Antônio Olinto, Arapoti, Araucária, Balsa Nova, Boa Ventura do São Roque, Campo do Tenente, Campo Largo, Carambeí, Castro, Conselheiro Mairinck, Fazenda Rio Grande, Guamiranga, Ibaiti, Imbituva, Ipiranga, Irati, Jaguariaíva, Japira, Joaquim Távora, Lapa, Mallet, Nova Tebas, Palmeira, Piraí do Sul, Pitanga, Ponta Grossa, Prudentópolis, Quitandinha, Rebouças, Reserva, Rio Azul, Santo Antônio da Platina, São José da Boa Vista, São Mateus do Sul, Teixeira Soares, Tibagi, Tomazina e Wenceslau Braz.

As amostras de leite, 414 no verão e 389 no inverno foram transportadas sob refrigeração em caixas térmicas com gelo reciclável, para o Centro Mesorregional de Excelência em Tecnologia do Leite (CMETL), pertencente a UEPG, para a realização das análises laboratoriais. No laboratório, as amostras foram mantidas destampadas sob refrigeração para volatilização do gás carbônico, e refrigeradas a 4° C, a fim de manter a temperatura ideal de resfriamento do leite, segundo a IN nº 76 (BRASIL, 2018). A temperatura das amostras permaneceu em constante monitoramento com o auxílio de um termômetro digital.

A estabilidade do leite foi analisada segundo a metodologia de Tronco (2010) através do teste do álcool, nas seguintes concentrações de etanol: 72, 76, 78, 80, 82 e 86% v/v. Foram pipetados 2 mL de leite e 2 mL de solução de etanol, em uma placa de Petri. Em seguida foi realizada a homogeneização e então a análise visual, observando-se a presença ou não de precipitação. A avaliação da estabilidade do leite foi feita por meio da observação visual da presença ou ausência de grumos. O valor para considerar o leite instável foi a menor concentração de álcool que levou a coagulação. Todas as amostras que não apresentaram grumos quando utilizada a solução de etanol de 82% v/v foram estáveis a 86% v/v.

A acidez titulável ou acidez Dornic foi determinada segundo metodologia descrita por Tronco (2010), em duplicata. Foram pipetados 10 mL de leite em um Erlenmeyer e acrescentadas 3 a 5 gotas de indicador Fenolftaleína 1%. A titulação foi feita por meio de uma bureta e um titulador com solução de hidróxido de sódio a 0,11 N (NaOH), até atingir o ponto de viragem, onde o leite atinge uma coloração ligeiramente rósea. Ao atingir o ponto de viragem, verificou-se a quantidade de solução necessária para a titulação em mL, e a acidez determinada em graus Dornic (°D) foi calculada conforme a equação:

$$\text{Acidez Dornic} = \text{valor obtido da titulação} * \text{fator de correção da solução de NaOH} * 10$$

O leite foi classificado em:

a) Leite Estável: (pH normal entre 6,6-6,8) e sem a presença de grumos, com acidez entre 0,14 – 0,18 g ácido láctico/100 g;

b) Leite Instável (LINA): leite com a presença de grumos e pH normal (entre 6,6-6,8) com acidez entre 0,14 – 0,18 g ácido láctico/100 g;

Para a determinação do cálcio iônico das amostras de leite foi utilizado um potenciômetro (Orion®). O potenciômetro conta com eletrodo de íon seletivo para cálcio e outro eletrodo para leitura direta em mg/L. Para a sensibilização dos eletrodos, eles foram mergulhados por no mínimo quatro horas em solução de cálcio padronizada (1000 ppm). Para a calibração dos eletrodos foram utilizadas soluções padronizadas preparadas nas concentrações de 50 ppm e 500 ppm, em cada solução foram adicionados 1 mL de *ionic strength adjustor* – solução de ajuste de KCl. Para determinar o teor de cálcio iônico no leite bovino foram utilizados 50 mL de leite e 1 mL de *ionic strength adjustor*, sendo homogeneizadas e, posteriormente, os eletrodos foram colocados imersos na amostra, para determinação de cálcio iônico.

Os dados de composição do leite foram cedidos pela indústria, no qual eram realizadas coletas de amostras do tanque de resfriamento quinzenalmente, e as análises foram realizadas pela Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, localizada em Curitiba-PR. As análises de composição química do leite foram realizadas no equipamento *NexGen (Bentley Instruments®)* pelo módulo FTS, que analisa simultaneamente os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais.

A análise estatística dos dados em função das duas estações do ano foi realizada por meio do programa Minitab Estatística e a comparação entre as médias foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) utilizando-se o teste t de Student, ao nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre a estabilidade do leite nas estações avaliadas, onde pode-se observar maior estabilidade no período do inverno.

Tabela 1 - Médias e desvio-padrão (DP) dos valores de estabilidade do leite ao etanol (v/v) e teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado (ESD) e teor de cálcio iônico no leite de vacas nas estações de verão e inverno

Parâmetro	Estação do Verão ±DP	Estação do Inverno ± DP	P
Estabilidade (v/v)*	78 ±4,29b	83 ±4,50 ^a	0,000
Acidez (g ácido láctico/100 mL)	14,87 ±1,67b	16,55 ±1,88 ^a	0,023
Cálcio iônico (mg/L)	128 ±47,23a	94,3 ±19,79b	0,000
Gordura (%)	3,60 ±0,44b	3,77 ±0,64 ^a	0,016
Proteína (%)	3,20 ±0,19a	3,21 ±0,48a	0,802
Lactose (%)	4,40 ±0,20a	4,39 ±0,62a	0,882
Sólidos totais (%)	12,23 ±0,60a	12,30 ±1,77a	0,440
ESD (%)	8,55 ±0,30a	8,53 ±1,20a	0,726
N	414	389	

*Estabilidade do leite ao etanol nas concentrações de 72, 76, 78, 80, 82 e 86% v/v. Médias seguidas de letras diferentes na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste T Student. N= número de amostras.

Fonte: A autora

Resultados semelhantes foram encontrados por Werncke (2012) onde os casos de estabilidade foram menores durante o período do verão, sendo relacionados ao fato da entressafra de pastagens, menor qualidade e disponibilidade de alimento e ao estresse térmico que afeta o consumo por parte dos animais. Stumpf *et al.* (2013) verificaram que vacas submetidas a restrições alimentares desencadeiam aumento na permeabilidade das células da glândula mamária, levando a uma redução da estabilidade do leite. Marques *et al.* (2007) observaram casos de instabilidade no período do verão e diminuição desses casos no inverno, indicando maior estabilidade do leite na estação mais fria do ano.

Adicionalmente, a maior estabilidade do leite no período de outono e inverno pode estar relacionada aos períodos do ano com maior disponibilidade de matéria verde das pastagens, onde há maior consumo de pastos como azevém anual (*Lolium multiflorum*) e aveia preta (*Avena strigosa*), espécies bastante utilizadas na região dos Campos Gerais (ZANELA, *et al.*, 2009).

O clima dos Campos Gerais apresenta algumas variações intimamente ligadas à sua localização, como é o caso da temperatura que variam de 17° a 21° C, índices de precipitação que em média são de 1.200 e 1.800 mm, e a umidade relativa do ar que é elevada e atua favorecendo o equilíbrio da temperatura, na maior parte da região predomina a faixa de 75 a 80% (MELO, 2007). Forrageiras de clima temperado, como a aveia e o azevém são adaptadas a climas mais frios, temperatura baixa e geadas, o que permite seu plantio no outono e inverno, as estações do ano tem grande influência na produção, na digestibilidade e no teor de proteína bruta, sendo sua qualidade nutritiva incomparável com as forrageiras tropicais (CÓRDOVA; FLARESSO, 2015).

Muitos produtores pequenos da região, ainda utilizam o sistema a pasto e no verão com o final do ciclo da produção de matéria seca das forragens, ocorre a queda da qualidade pela ausência ou limitação do uso de forrageiras conservadas e a não disponibilidade de forrageiras cultivadas nas estações frias. Sabe-se que as condições climáticas ideais para a produção de leite são de 5°C e 25°C, sendo considerada a zona de conforto térmico (SOUZA *et al.*, 2018). A tolerância das vacas a temperaturas inferiores a 5°C varia com a idade e produtividade, porém quando a temperatura se encontra com valores acima de 27°C, o desempenho decresce rapidamente (FONSECA; SANTOS, 2000). No caso das vacas da raça holandesa, predominantes na região, estudos indicam a ineficiência dos animais manterem sua temperatura corporal, gerando um estresse e comprometendo consequentemente a produção de leite (NASCIMENTO *et al.*, 2017).

A IN nº 76 estabelece que a estabilidade do leite ao alizarol deve ocorrer na concentração mínima de etanol de 72% v/v (BRASIL, 2018). Porém, gradações de álcool 76, 78, 80% v/v têm sido praticadas por diversas indústrias, na expectativa de captar leite de melhor qualidade (BRASIL *et al.*, 2015). Então, pode-se afirmar que as amostras de leite analisadas nas regiões do Paraná, de modo geral, apresentaram alta estabilidade ao etanol, sendo estáveis na concentração de 78% v/v no verão e 83% v/v no inverno. Estes resultados indicam o manejo adequado dos animais na região quanto à nutrição e ambiência nas instalações, pois animais com a nutrição adequada dos animais, sem restrições apresentam mais estabilidade no leite, Zanela *et al.* (2009) cita autores que relataram casos de LINA em animais que passaram por situação de restrição.

O leite instável não ácido (LINA) é caracterizado pelo leite instável ao álcool 72% v/v com acidez entre 14 a 18°D. No verão, foram analisadas 414 amostras, dessas, 63 amostras foram caracterizadas como LINA, totalizando 15,22 % de casos de LINA no verão. No inverno, das 389 amostras analisadas apenas 10 se enquadravam nas características do leite LINA, totalizando apenas 2,6% de casos de LINA nesta estação. Neste sentido, os resultados do presente trabalho diferem até mesmo dos obtidos por Marx *et al.* (2011), que avaliaram amostras de leite da região oeste do estado do Paraná, e encontraram 33% de casos LINA na estação do verão.

Avaliando a estabilidade do leite no estado de Minas Gerais, OLIVEIRA *et al.* (2015) encontraram 14,88% de casos na estação do verão. No estado do Mato Grosso foram encontrados 13,95% de casos de LINA durante as estações de primavera, verão e outono (SOUZA; BALDASSO ROMERO; BUENO DA ROSA, 2017), no Rio Grande do Sul, Marques *et al.* (2007) obtiveram resultados positivos para LINA em 44,1% das amostras avaliadas e Zanela *et al.*, (2009), encontraram 55,2% no mesmo estado, ambos os trabalhos avaliando ao longo do ano. Em São Paulo foram encontrados 36,18% no período chuvoso e 41,9% no período seco de casos de LINA (OLIVEIRA *et al.*, 2011), em Santa Catarina Werncke (2012) obteve 29,03% amostras de LINA

avaliados durante o ano. Os estudos relatados apresentam variações devido a diferença no período de amostragem, indicando possível sazonalidade sobre a ocorrência do LINA, também pode-se atribuir a raça de animal presente na propriedade, idade do rebanho, a mudanças bruscas na dieta, desequilíbrio mineral e genética ((FONSECA; SANTOS, 2000)

Em relação a acidez titulável, foram obtidos valores de 0,1487g de ácido láctico/100 mL no verão e 0,1655g de ácido láctico/100 mL no inverno, apresentando diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as estações do ano avaliadas. Foi observado que leite de vacas que foram submetidas ao estresse térmico pode apresentar menor acidez titulável, como consequência do estresse, pode haver uma diminuição do consumo de matéria seca, causando um déficit de energia e menores teores de caseína que são ricas em grupos fosfatos, componentes ácidos das micelas, podendo então explicar a menor acidez titulável do leite registrada durante os meses do verão, concordando com os resultados encontrados no presente trabalho (BERNABUCCI; BASIRICÓ; MORERA; 2013).

Apesar da diferença, os valores estão dentro do preconizado pela legislação vigente, que é de 0,14 a 0,18g de ácido láctico/100 mL, demonstrando normalidade da acidez nas amostras de leite dos produtores analisados (BRASIL, 2018). Resultados semelhantes foram encontrados por Fernandes; Pereira e Pinho (2013), onde a acidez titulável do leite apresentou-se menor na estação da primavera em relação as outras estações avaliadas, porém, todos os valores apresentaram-se dentro dos limites preconizados.

O leite *in natura* apresenta acidez titulável natural, que pode ser resultado da presença de CO₂, fosfatos, citratos, caseína e outros componentes de menor relevância, e fatores como a raça do animal, período de lactação, alimentação, casos de mastite (BRITO; BRITO, 1998). A acidez adquirida é resultado de leites obtidos sob más condições de higiene, mantido sob temperaturas elevadas, o que permite a multiplicação dos microrganismos como as bactérias mesófilas dos gêneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* e algumas enterobactérias que atuam fermentando a lactose e produzindo ácido láctico (FORTUNA, 2015; MARQUES *et al.*, 2007). O leite ácido não é aceito pelas indústrias, pois a propensão a baixa estabilidade térmica pode ocasionar coágulos durante o processo que envolvam altas temperaturas, aderindo-se aos equipamentos e processamento, resultando em maiores custos de limpeza, manutenção, além do descarte do leite (ROSA *et al.*, 2017).

Os mecanismos que levam à instabilidade podem ser explicados pelas alterações na concentração de íons de cálcio que promovem modificações no balanço salino do leite e aumentam a força iônica (FORTUNA, 2015). Em leites com maiores teores de cálcio iônico, foi observado menor estabilidade da caseína, conseqüentemente, menor estabilidade ao teste do etanol. Sendo assim, existe uma correlação negativa entre a estabilidade ao etanol e a concentração de cálcio

iônico em leite *in natura* (BARROS, 2002; FONSECA; SANTOS, 2007; NEVES, 2021). Os resultados do presente trabalho corroboram com as afirmações dos autores citados, pois a maior concentração de cálcio iônico (128 mg/L) ocorreu no período de menor estabilidade do leite, ou seja, no verão. Entretanto, no inverno, verificou-se maior estabilidade do leite e ao mesmo tempo, menores concentrações de cálcio iônico (94 mg/L). Estes resultados também se assemelham aos encontrados por Barros *et al.* (1999), onde houve aumento do cálcio iônico para amostras positivas ao teste do álcool, com valores de 110 mg/L, e 94 mg/L de cálcio iônico nas amostras negativas.

Os teores de gordura nas duas estações avaliadas estão acima do valor mínimo exigido que é 3,0g/100g segundo a IN nº 76, sendo observados teores de 3,60% no verão e 3,77% no inverno. Teixeira *et al.* (2003) e Noro *et al.* (2006) também observaram maiores teores de gordura no inverno, assim como no presente trabalho. Os maiores teores de gordura foram encontrados na estação do inverno, período de maior estabilidade do leite. No entanto, os autores Barros *et al.* (1999) e Camargo (2008) obtiveram valores diferentes onde a porcentagem de gordura foi maior em leites com menor estabilidade. Os maiores teores de gordura no inverno ocorreram pelo fato de que os animais estão próximos a sua zona de conforto térmico, o que desencadeia um maior consumo de matéria seca e ruminação. Adicionalmente se observa maior produção e qualidade de forragem nessa época, com isso há aumento de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen, como o acetado, precursor da gordura do leite (SOUZA *et al.*, 2018).

Os resultados sobre o teor de proteína não apresentaram diferenças significativas entre as estações do ano verão e inverno. Resultado semelhante foi encontrado por Souza *et al.* (2018), os autores Andrade *et al.* (2014) e Melo *et al.* (2016) também não observaram efeito significativo da estação do ano sobre a proteína bruta em seus estudos. O aumento da ingestão de volumoso ou desbalanço na relação de concentrado:volumoso, faz com que haja um aumento na produção de ácido acético e um decréscimo na de ácido propiônico que é o precursor da proteína do leite, resultando em menores concentrações (SOUZA *et al.*, 2018). Tanto no verão quanto no inverno os teores de proteína (3,20% e 3,21% respectivamente) estão acima do teor mínimo de proteína preconizado pela legislação vigente que é 2,9g/100g (BRASIL, 2018).

A lactose é um dos componentes mais estáveis do leite, e sua variação pode estar associada a energia na dieta e a sanidade da glândula mamária (BATTAGLINI *et al.*, 2013). Não houve diferença estatística significativa entre as estações do verão e inverno. Os resultados estão dentro do valor mínimo exigido de 4,3g/100g pela IN nº 76. Noro *et al.* (2006), Henrichs; Macedo e Karam; (2014) e Campos *et al.* (2016) encontraram resultados diferentes, pois observaram maiores teores de lactose na estação do inverno e menores durante o verão.

O teor mínimo de sólidos totais no leite bovino é de 11,4g/100g (BRASIL, 2018). Os resultados das amostras avaliadas estão dentro do mínimo preconizado, porém, não foi observada diferença significativa entre as estações. Resultados semelhantes foram observados por Azambuja (2018) com teor de sólidos totais de 12,46g/100g sem diferenças significativas ao longo do estudo. Entretanto, Souza *et al.* (2018) e Henrichs; Macedo e Karam; (2014) observaram teores de sólidos totais mais elevados no período do inverno, relacionando a disponibilidade e qualidade de forragem ofertada nesse período. Diferentemente dos resultados obtidos no presente trabalho, estudos demonstraram que amostras de leite de animais da raça Jersey que apresentaram maior estabilidade do leite, estavam relacionadas a menores teores de sólidos totais (NEVES, 2021).

O teor mínimo de extrato seco desengordurado (ESD) é de 8,4% (BRASIL, 2018). Os valores encontrados no presente trabalho foram de 8,53% no inverno e 8,55% no verão, estando de acordo com o limite segundo a legislação. Fernandes; Pereira e Pinho (2013) apontaram em suas pesquisas que houve redução do ESD durante o período do inverno, o que corrobora com os resultados do presente trabalho. No entanto, as amostras avaliadas nesse trabalho não apresentaram diferença significativa. Em contrapartida Pereira *et al* (2018) encontraram valores de ESD maiores no período de inverno que no verão (12,79% e 12,03% respectivamente).

4. CONCLUSÕES

Na estação de inverno, a ocorrência de casos de LINA é inferior em relação à estação do verão, estando este resultado relacionado com a maior disponibilidade e qualidade de alimento no inverno, assim como o maior conforto térmico, que aumenta a ingestão de matéria seca e a ruminação

O período de maior de acidez foi observado na estação do verão, podendo ser relacionado com a estação de menor estabilidade do leite devido ao estresse térmico ou estando relacionado a acidez adquirida do leite

A concentração de cálcio iônico está relacionada negativamente com a estabilidade do leite, uma vez que amostras de leite com baixa estabilidade apresentam maiores concentrações de cálcio iônico.

Os teores de gordura foram maiores durante o inverno, período de maior estabilidade onde os animais se encontram mais próximos da sua temperatura e zona de conforto, o que causa um aumento no consumo, aumentando teores de acetato precursor da gordura.

Nos parâmetros proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado não foram encontradas diferenças significativas entre as estações do verão e inverno.

REFERÊNCIAS

- ABLV – Associação Brasileira da Indústria de Láceos Longa Vida. **Relatório Anual 2020**. [2021]. Disponível em: <https://ablv.org.br/wp-content/uploads/2021/05/ABLV-Relatorio-Anual-2020.pdf>. Acesso em: 11 de nov. 2021.
- AZAMBUJA, M. G. R. **Incidência do leite instável não ácido em rebanhos leiteiros no sudoeste do Paraná**. 2018. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2018.
- ANDRADE, Q.D et al. Qualidade do leite bovino nas diferentes estações do ano no estado do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Ciência e Veterinária**, v.21, n.3, p.213-216, 2014.
- BARROS, L et al. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Práticas Veterinárias. Publicación del Centro Veterinario de Florida**, Uruguay, v. , n 9, p 315, 1999.
- BARROS, L. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais (sangue, leite e urina). In: Congresso Nacional de Medicina Veterinária, 29., Gramado. **Anais...** Gramado, 2002. v. , n. , p. 18-26.
- BATTAGLINI, A. P. P. et al. Caracterização físico-química e microbiológica do leite bovino instável não ácido em função das estações do ano. **Revista Brasileira de Med. Vet**, v. 35, n. 1, p 26-32, 2013.
- BELOTI, V. **Leite: obtenção, inspeção e qualidade**. Londrina: Editora Planta. 2015.
- BERNABUCCI, U.; BASIRICÓ, L.; MORERA, P. Impact of hot environment on colostrum and milk composition. **Cellular and Molecular Biology**, v. 59, n. 1, p. 67–83, 2013.
- BONDAN, C. Variações na qualidade composicional do leite no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO NACIONAL DA VACA LEITEIRA, 2., 2015, Porto Alegre. **Anais [...]** Porto Alegre: Félix H. D. González, Pedro M. Mallmann Júnior, 2015. v. , n. ,p. 63-93.
- BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Dispõe sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**: Brasília, 29 mar. 2017. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/d9013.htm. Acesso em: 12 de nov. 2021
- BRASIL. Instrução Normativa no 76, de 26 de novembro de 2018. Dispõe sobre Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 nov. 2018. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076>. Acesso em: 22 de jun. 2021.

BRASIL, R. B. et al. Estrutura e estabilidade das micelas de caseína do leite bovino. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 25, n. 2, p. 71-80, jun./set. 2015.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, F. R. F.; **Qualidade higiênica do leite**. Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL-ADT, 1998, 17p.

CAMARGO, L. L. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, São Paulo, 2008.

CAMPOS, P.P.L.E, et al. Quality indicators of tank milk in different production systems of tropical regions. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, n.4, p. 2807-2818, 2016.

CÓRDOVA, U. A; FLARESSO, J. A. Principais grupos de forrageiras de clima temperado **Agropecu. Catarin**. v. 28, n. 1, p. 38-43, 2015.

EMBRAPA. Anuário Leite 2021: saúde única e total. Editorial. **Embrapa Gado de Leite**. 102p. São Paulo, 2021. Disponível em:< <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1132875/anuario-leite-2021-saude-unica-e-total>>. Acesso em: 11 de nov. 2021.

EMBRAPA. **Composição**. Agência de Informação Embrapa. Brasília. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html. Acesso em: 06 dez. 2021.

FAGNANI, R. et al. Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. **J Sci Food Agric**, v. 98, n. 7 p. 2787-2892, 2017.

FERNANDES, R. F.; PEREIRA, A. S. F.; PINHO, L. Influência da Sazonalidade em parâmetros físico-químicos do leite cru recebido por um laticínio no Norte de Minas Gerais. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 393, p. 36-41, jul/ago., 2013

FISCHER, V. et al. Leite instável não ácido (LINA): prevenção na propriedade leiteira e impactos nos laticínios. In: III Simpósio Nacional de Bovinocultura de Leite e 1st International Symposium of Dairy Cattle. **Anais...** Viçosa, MG, v. , n. ,p. 45-65, 2011.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do Leite e Controle da Mastite**. São Paulo; Lemos Editorial, 2000, 175 p.

FONTANELI, R. S. **Fatores que afetam a composição e as características físico-químicas do leite (2001)**. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/quimica_leite.pdf. Acesso em: 20 dez. 2021.

FORTUNA, L. A. P. **Estudo da estabilidade da micela de caseína em leite estável e instável não ácido**. 2015. Tese (Doutorado) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2015

GDP – Global Dairy Platform. **Annual Review 2016**. Rosemont, IL, [2017]. Disponível em: <https://www.globaldairyplatform.com/wp-content/uploads/2018/04/2016-annual-review-final.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2021

GONZÁLEZ, F. H. D., et al. **Qualidade do leite bovino: variações no tropico e no subtropical**.

Passo Fundo: UPF editora, 2011. v. , n. , p. 190.

HENRICHES, S.C.; MACEDO, R.E.F.; KARAM, B.L. Influência de indicadores de qualidade sobre a composição química do leite e influência das estações do ano sobre esses parâmetros. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias Ambientais**, v. 12, n. 3, p. 199-208, 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Pesquisa Trimestral do Leite**. Rio de Janeiro, RJ, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html?=&t=o-que-e>. Acesso em: 16 dez. 2021.

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

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

MARX, I. G. et al. Ocorrência de leite instável não ácido na região Oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, p. 101- 112, 2011.

MELO, A.F et al. Efeitos do estresse térmico na produção de vacas leiteiras: **Revisão. Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.10, n.10, p.721- 730, 2016.

MELO, M. S. **Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2007.

NASCIMENTO, S. T. et al., Influencia da temperatura ambiente no verão na produção de leite de vacas holandesas. **Puvet**, v. 11, n. 3, p. 217-223, 2017.

NEVES, T. F. F. **Estabilidade do leite: características físico-químicas e parâmetros de desempenho e rebanhos especializados das raças Holandesas e Jersey**. 2021. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2021.

NORO, G.; et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006.

OLIVEIRA, C. A. et al. 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**, v. 12, n. , p. 508-515, 2011.

OLIVEIRA, L. R. et al. Parâmetros físicos do leite e ocorrência do leite instável não ácido em diferentes municípios do Norte de Minas Gerais. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 7, n. ,p. 150-154, 2015.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos**. Rio Grande do Sul: Artmed, v. 1, n. , p. , 2005.

PEREIRA, B. P. et al. Análise da qualidade do leite bovino em diferentes estações do ano em um laticínio no município de Rio Pomba-MG. Congresso Brasileiro de Zootecnia, 28, 2018, Goiânia.

Anais [...] Goiânia: IF Sudeste, 2018.

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

SILVA, H. A. et al. Análise da viabilidade econômica da produção de leite a pasto e com suplementos na região dos Campos Gerais – Paraná. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 445-450, 2008.

SOUZA, J. S. et al. Efeito da sazonalidade na produção e composição química do leite de vacas Jersey. **Revista Científica Rural**, v. 20, n. , p. 2018.

SOUZA, M. L. P; BALDASSO ROMERO, N.; BUENO DA ROSA, C. C. Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) na região norte do Mato Grosso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. , p. 38-42, 2017.

STUMPF, M.T. et al. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, v.7, n. 7, p. 1137-1142, 2013.

TEIXEIRA, N.M.; FREITAS, A.F.; BARRA, R.B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.55, n. , p.491-499, 2003.

TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite**. Editora UF ed. v. 4, n. , p. , 2010.

ZANELA, M. B. et al. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 61, n. 4, p. 1009-1013, 2009.

ZANELA, M. B. et al. Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL SOBRE LECHE INESTABLE, 2., 2011, Colonia. **Anais** [...] Colonia: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria de Uruguay, 2011. p. 2-5.

ZANELA, M. B. et al. Leite instável não ácido (LINA): do campo a indústria. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 6., 2015, Curitiba. **Anais** [...] Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2015. p. 1-16

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Química y física lactológica**. Editorial Acribia Zaragoza. 1984.

WERNCKE, D. **Perfil das propriedades e ocorrência de leite instável não ácido na região do vale do braço do norte, sul do estado de Santa Catarina**. 2012. Dissertação de mestrado (Produção Animal). Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC. 2012.