

LEITE INSTÁVEL NÃO-ÁCIDO: REVISÃO

GUILHERME AUGUSTO MANSKE¹
ANA LUIZA BACHMANN SCHOGOR²
LARYSSA FREITAS RIBEIRO³

RESUMO

RESUMO: A bovinocultura de leite, que tem grande importância para o desenvolvimento do país, está em amplo crescimento, e, juntamente a isso, existe a necessidade de uma melhoria constante de aspectos qualitativos da matéria prima obtida pelo setor. O leite instável não ácido (LINA) ainda tem sido um desafio para diversas regiões e produtores, trazendo prejuízos para toda a cadeia. Em virtude disto, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica referente aos aspectos gerais do LINA, à prova do álcool, à estrutura micelar, à influência do LINA sobre a composição e à prevalência encontrada em diferentes regiões do país. Conclui-se que o leite instável não ácido tem alta ocorrência nas propriedades rurais, possui relação direta com as dietas desbalanceadas. Além disso, há a necessidade da realização de outras análises em associação com a prova do álcool para que ocorra uma destinação adequada do LINA.

Palavras-chave: bovinocultura, caseína, coagulação, estabilidade.

ABSTRACT

Milk cattle farming, which has great importance for the development of the country, is in great growth, and, along with this, there is a need for a constant improvement of qualitative aspects of the raw material obtained by the sector. Unstable acid milk (LINA) has still been a challenge for many regions and producers, bringing damage to the whole chain. Therefore, the objective of this study was to perform a bibliographic review regarding the general aspects of LINA, the alcohol test, the micellar structure, the influence of LINA on the composition and prevalence found in different regions of the country. It is concluded that unstable acid milk has a high prevalence in rural properties, it is directly related to unbalanced diets. In addition, it is necessary to carry out other tests in association with the alcohol test so that an adequate allocation of LINA occurs.

Keywords: cattle breeding, casein, coagulation, stability.

-
1. Graduando do Curso de Pós-Graduação da Universidade Cândido Mendes, graduado em Medicina Veterinária e Tecnologia em Alimentos pela UCEFF, mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela UDESC.
 2. Professora coorientadora, graduada em Zootecnia pela UFPR, mestre em Ciência Animal e Pastagens pela USP, doutora em Zootecnia pela UEM, pós-doutorado pela Aberystwyth University, ABER, Gales.
 3. Professora orientadora, graduada em Medicina Veterinária pela UNESP, câmpus de Jaboticabal, mestre e doutora em Medicina Veterinária também pela UNESP Jaboticabal. Atualmente professora do Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP), Monte Carmelo, Minas Gerais

INTRODUÇÃO

A bovinocultura de leite é uma das atividades do setor agropecuário com grandes responsabilidades, pois assume grande importância em diversas regiões do país, sendo altamente relevante no contexto econômico, social e ambiental. Destaca-se a heterogeneidade do setor, pois apresenta granjas leiteiras com pequenas estruturas, com mão de obra familiar, pequenas cooperativas e até mesmo grandes fazendas, com instalações mecanizadas e alto nível tecnológico (WILLERS *et al.*, 2014).

O setor encontra-se em desenvolvimento, tanto produtivo quanto de qualidade, em que, desde 2005, com a implementação da Instrução Normativa no 51, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2002), oficializou-se a implantação de um programa para controlar e padronizar a qualidade do leite. Posteriormente, a mesma foi substituída pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011) e atualmente, alterada pelas Instruções Normativas 76 e 77 (BRASIL, 2018), sendo que todas visam atingir parâmetros de qualidade cada vez melhores. Entre os requisitos para se aceitar o leite nas indústrias, observa-se a composição química mínima (3% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato desengordurado), e, se o mesmo é estável ao álcool ou alizarol a 72%.

Mesmo com o avanço da busca por melhoria da qualidade leite, visto pelo avanço das normativas, o leite instável não ácido (LINA) é uma alteração que vem preocupando produtores e laticínio, cuja causa ainda não está definida. Assim, é um dos desafios encontrados atualmente na conjuntura da bovinocultura leiteira, por isso é amplamente estudado em todas as regiões. O LINA é evidenciado na prova do álcool, apresentando coagulação positiva, demonstrando desestabilização da estrutura micelar à determinada graduação alcoólica (ZANELA *et al.*, 2006), o que acaba resultando em prejuízos a toda cadeia produtiva, devido a possível rejeição e penalização ao produtor, ou até problemas durante o processamento da matéria prima pela indústria.

Sabendo da importância da qualidade do leite e do prejuízo causado pelo leite LINA, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica referente aos aspectos gerais do

LINA, à prova do álcool, à estrutura micelar, à influência do LINA sobre a composição e à prevalência encontrada em diferentes regiões do país.

REVISÃO DE LITERATURA

Leite instável não ácido e prova do álcool

Entre os diversos testes utilizados para avaliar a qualidade do leite, um dos mais utilizados é a prova do álcool, a qual é realizada na propriedade rural, antes do carregamento do mesmo, e também na plataforma de recepção na indústria. Esta prova é responsável por avaliar a estabilidade das proteínas lácteas, que são submetidas à desidratação provocada pelo álcool e é utilizada para estimar a estabilidade do leite quando submetido ao tratamento térmico (MARQUES *et al.*, 2007). A prova do álcool, portanto, tem como finalidade pré-determinar se a estabilidade térmica do leite é suficiente para suportar os processos de fabricação, especialmente o leite UHT e o leite em pó. As proteínas têm sua estabilidade máxima quando a temperatura, o pH e o equilíbrio eletrostático estão em seus pontos ótimos, tendendo a precipitar ou coagular quando um ou mais destes fatores estiverem alterados e, esta tendência é detectada pela prova do álcool (BELOTI, 2015).

A prova do álcool, em conjunto com o teste da acidez Dornic ou a análise do pH do leite são utilizados para identificar o leite instável não ácido, que é caracterizado como um conjunto de alterações em que a matéria prima apresenta acidez e pH dentro dos padrões normais, contagens bacterianas adequadas, mas, ainda assim, reagem positivamente em

relação ao teste do álcool (MARQUES *et al.*, 2007). Isso quer dizer, então, que o leite precipita em solução alcoólica sem, entretanto, haver acidez elevada (FISCHER *et al.*, 2012). Essa precipitação é associada às alterações na estabilidade das caseínas, às propriedades físico-químicas do leite, como o equilíbrio salino, e a proporção de cátions bivalentes (CHAVEZ *et al.*, 2004).

Um exemplo disso foi o estudo realizado por Ponce e Hernández (2001), os quais identificaram amostras de leite que apresentaram uma série de alterações em suas propriedades físico-químicas, que os tornavam positivo na prova do álcool. Estas alterações foram relacionadas a desbalanços nutricionais, distúrbios ruminais e fisiológicos que interferem nos processos de formação e secreção do leite. O fenômeno foi chamado de Síndrome do Leite Anormal (SILA). Segundo estes autores, as limitações na quantidade e qualidade da alimentação, especialmente no final de períodos de estiagem, leva à produção de leites anormais (instáveis). Além disso, segundo os autores, a SILA se agrava com vacas leiteiras de alto potencial genético, em função das maiores exigências nutricionais.

Ademais, as indústrias de laticínios, na expectativa de selecionarem um leite de melhor qualidade e mais estável, tendem a selecionar o leite de acordo com o teste de álcool, e por consequência, aumenta o número de amostras rejeitadas, as quais são consideradas inadequadas para o processamento industrial. Sendo assim, a indústria, quando utiliza somente a prova do álcool como fator de decisão para aceitação ou rejeição do leite, tem descartado, desnecessariamente a matéria prima, causando, portanto, prejuízos tanto para a indústria quanto para o produtor (MARQUES *et al.*, 2007).

Estrutura das micelas da caseína do leite

Para entender melhor o LINA, é necessário conhecer de que forma as proteínas estão distribuídas no leite e a estrutura das micelas de caseína. As proteínas do leite podem ser divididas em duas grandes classes, as caseínas e as proteínas do soro, tendo um percentual de 80% e 20%, respectivamente (BELOTI, 2015). As caseínas são as que possuem maior importância para a indústria (SGARBIERI, 2005), sendo classificadas em quatro subgrupos principais, α_1 , α_2 , β e κ . Elas são fosfoproteínas, as quais possuem sequências fosforiladas, através das quais pode interagir com fosfato de cálcio, tornando-o capaz de sequestrar fosfato de cálcio, formando minúsculos agrupamentos de íons circundados por uma camada de proteína (HOLT, 2004). Além disso, encontram-se no leite em forma de micelas, nas proporções aproximadas de 4:1:3,5:1,5 (DALGLEISH, 2011). Essas micelas são compostas por 93% de caseínas e o restante, 7%, por cálcio inorgânico (2,87%), fosfato (2,89%), citrato (0,4%) e pequenas quantidades de magnésio, sódio e potássio (SGARBIERI, 2005).

Ainda existem algumas dúvidas referentes a conformação exata das micelas de caseína, porém, a estrutura que mais ganha suporte é a proposta por Walstra (1990), na qual a micela é essencialmente esférica, contudo, não lisa, formada por unidades menores, denominadas de submicelas, que são ligadas por aglomerados (clusters) de fosfato de cálcio. Dessa forma, as submicelas se agregam até a formação completa da micela, com predominância de α_1 -, α_2 - e β -caseína na porção interna, e a κ -caseína se posiciona na superfície. Essa κ caseína projeta a porção C-terminal (glicopeptídeo) para fora da superfície, criando uma camada esponjosa, que previne, por repulsão eletrostática, qualquer agregação posterior de submicelas. A micela de caseína é classificada como anfótera, ou seja, possui grupamentos ácidos (COOH) e básicos (NH₃), com uma predominância de ácidos sobre os amino, portanto, a carga resultante é negativa, o que gera uma repulsão entre as micelas, impedindo a agregação das mesmas (BELOTI, 2015). Portanto, quando a amostra coagula na prova do álcool, é porque a estabilidade da estrutura micelar está fraca, e isso pode ocorrer devido a fatores já citados anteriormente, como a acidez (neste caso, devido a contaminação)

ou algum desequilíbrio no sistema, como por exemplo, o aumento do cálcio iônico do leite (MARTINS *et al.*, 2015), o que pode reduzir as cargas negativas das micelas de caseína e a força de repulsão eletrostática estabelecida entre elas e, portanto, diminuir a resistência durante o contato com o etanol ou durante tratamentos térmicos (BARROS *et al.*, 1999). Fatores nutricionais e metabólicos, como o DCAD (diferença cátion-ânion dietética), influenciam diretamente na estabilidade do leite para etanol e durante o aquecimento a 140°C, que é diminuída linearmente com a redução de DCAD devido a alterações no equilíbrio iônico do leite e as interações entre as proteínas do leite na micela (MARTINS *et al.*, 2015).

Devido a sua importância, o interesse por estudos da caseína micelar se mantém constantes ao longo dos anos, uma vez que muitas das propriedades tecnologicamente importantes do leite, por exemplo, a cor branca, a estabilidade ao calor, ao etanol e a coagulação pelo coalho, é devido às propriedades das micelas de caseína (FOX; BRODKORB, 2008).

Composição química do LINA

A composição do leite é fundamental para a fabricação de derivados lácteos e afeta diretamente o valor nutricional dos alimentos produzidos (ZANELA *et al.*, 2015). Quando se fala em composição química do leite instável não ácido, ainda existem controversas entre autores, embora seja destacado, que a variação que apresenta é de pequena magnitude (FISCHER *et al.*, 2012).

Marques *et al.* (2007) compararam LINA na região sul e noroeste do Rio Grande do Sul (RS). Na região sul do RS, foi avaliado as diferenças químicas entre leite instável não ácido a 76% de graduação alcóolica, em 8.830 amostras, das quais, 10% foram enviadas ao laboratório credenciado ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para determinação química e houve diminuição significativa para proteína e lactose, aumento da concentração de gordura. Entretanto, na região noroeste, foram analisadas 2.205 amostras para composição química, as quais não houve variação significativa de gordura entre o leite normal e o LINA (76%), porém, foram encontradas diminuições significativas para proteína, lactose, sólidos totais e sólidos desengordurados (ZANELA *et al.*, 2009).

Um outro estudo avaliou a composição química do leite dos animais em uma propriedade rural no extremo oeste de Santa Catarina, com uma alimentação balanceada e a outra não balanceada. O ajuste de dieta foi feito para dois grupos, um grupo de 8 vacas da raça Jersey, e, outro também de 8 animais, da mesma raça, os quais foram mantidos sob a alimentação que a propriedade utilizava (NRC, 2001). Entretanto, mesmo com a diferença da dieta, não houve diferença estatística de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado, entre LINA e leite considerado normal de nenhum dos dois grupos (ABREU, 2008).

De forma geral, nos estudos relatados, nenhum aponta valores dos constituintes do LINA fora dos padrões exigidos pela legislação (IN 76 e IN 77) (MARQUES *et al.*, 2007), e, desta forma, justifica-se a necessidade de correlacionar demais teste realizados na indústria com o resultado do teste do álcool para tomada de decisão na destinação da matéria prima recebida. Somado a isso, não se tem garantias de que as mudanças encontradas nas amostras de leite utilizadas nos trabalhos sejam relacionadas ao LINA, pois são inúmeros os fatores relacionados que tem poder de interferência, como o período do ano, clima, produção leiteira, alimentação de baixa qualidade nutricional, uso de concentrados de forma desbalanceada, mastite, raça, idade, características individuais, estágio de lactação, saúde do animal, período do cio, espaço entre ordenhas, entre outros fatores que podem interferir na composição do leite (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Nutrição e o LINA

Alguns autores avaliaram a influência da nutrição sobre a prevalência de LINA. Zanela *et al.* (2006), por exemplo, induziram a restrição alimentar de 40% dos animais, atendendo, portanto, apenas 60% das exigências nutricionais. Houve aumento significativo na incidência de LINA quando os animais estavam sob restrição alimentar. Outro experimento também avaliou o fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey, e avaliaram seus efeitos sobre a instabilidade do leite. O leite das vacas, que receberam altos níveis de energia e proteína, foi mais estável na prova do álcool, quando comparado àquele produzido pelos demais grupos avaliados, com baixa energia e proteína, e apenas com baixa energia e alta proteína (MARQUES *et al.*, 2010).

Stumpf *et al.* (2016) também foi outro estudo que buscou correlacionar os comportamentos das vacas mais propensas a apresentar leite com reduzida estabilidade ao álcool durante restrição alimentar. Houve redução na estabilidade ao álcool nos animais submetidos à restrição alimentar, assim como também, houve um aumento nas estereotípias, interações agonísticas, vocalizações e também permaneceram mais tempo em pé. Outros pontos avaliados pelos autores, foram os níveis de cortisol e lactose plasmática, onde ambos apresentaram aumento no grupo de animais sob restrição alimentar. A lactose plasmática é considerada um parâmetro confiável para determinação da permeabilidade das *tight junctions*, tendo relação direta com a diminuição da estabilidade ao álcool (STUMPF *et al.*, 2013).

Prevalência de LINA

Alterações na estabilidade do leite na prova do álcool, à determinada concentração, têm sido relatado em vários estados do Brasil, como no Rio Grande do Sul, com resultados positivos para LINA em 44,1% das amostras avaliadas (MARQUES *et al.*, 2007), 55,2% (ZANELA *et al.*, 2009), em São Paulo, 64,8% (OLIVEIRA *et al.*, 2011), no Paraná, 33% (MARX *et al.*, 2011), em Santa Catarina, 29,03% (WERNCKE, 2012) e no Rio Grande do Norte, 15,91% (FARIA, 2015). Todavia, não foram reportados nos trabalhos a destinação dos produtos classificados como LINA.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível concluir que o leite instável não ácido tem alta ocorrência nas propriedades rurais, sendo um dos problemas desafiadores da atualidade. Possui relação direta a dietas desbalanceadas, ponto esse muito encontrado principalmente em pequenas propriedades rurais, sem aporte nutricional adequado, favorecendo a sua ocorrência principalmente nas entressafras de pastagens. O suporte por parte dos laticínios no desenvolvimento de projetos relacionados ao manejo de pastagens e melhoria nutricional dos rebanhos a campo é de suma importância para a diminuição da ocorrência de LINA na plataforma.

Destaca-se também a necessidade da realização de outras análises em associação com a prova do álcool, como a acidez por Dornic, pH ou teste de fervura, para um correto diagnóstico entre LINA e o leite ácido, garantindo que haja uma correta interpretação e que não ocorra rejeição desnecessária da matéria prima, uma vez que não há problema quanto a utilização do LINA pela indústria, porém, deve ser destinado para produtos que não passem por altas temperaturas, como o UHT ou o leite em pó.

REFERÊNCIAS

ABREU, A. S. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas jersey**. Dissertação (Mestrado em Zootécnica), 111f. Faculdade de Agronomia, UFRGS – Porto Alegre, RS. 2008.

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

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 51, de 18 de setembro de 2002. Diário Oficial da União, 19 de setembro de 2002.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 62, de 29 de dezembro de 2011. Diário Oficial da União, 30 de dezembro de 2011.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 76, de 26 de novembro de 2018. Diário Oficial da União, 30 de novembro de 2018.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 77, de 26 de novembro de 2018. Diário Oficial da União, 30 de novembro de 2018.

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

DALGLEISH, D. G. On the structural models of bovine casein micelles – Review and possible improvements. **Soft Matter**, v. 7, p. 2265–2272. 2011.

FARIA, P. F. de. **Ocorrência de leite instável na região semiárida do Rio Grande do Norte e sua correlação com a qualidade do leite**. Dissertação de Mestrado (Produção Animal). Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Macaíba, RN. 2015.

FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; ZANELA, M. B.; MARQUES, L. T.; ABREU, A. S. de; 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**, Salvador, v. 13, n. 3, p. 838-849, jul./set. 2012.

FOX, P. F.; BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. **International Dairy Journal**, Canadá, v. 18, p. 677-684. 2008.

HOLT, C. An equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk. **European Biophysics Journal**, Germany, v. 33, p. 421-434. 2004.

MARQUES, L. T.; FISCHER, V.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JUNIOR, W.; MANZKE, N. Fornecimento de suplementos com diferentes níveis de energia e proteína para vacas Jersey e seus efeitos sobre a instabilidade do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2724-2730. 2010.

MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JUNIOR, 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.

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

MARX, I.G.; LAZZAROTTO, T.C.; DRUNKLER, D.A.; COLLA, E. Ocorrência do leite instável não ácido na região oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 1, p. 1-10. 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Seventh Revised Edition; National Academy Press: Washington, DC, USA, 2001.

OLIVEIRA, C.A.F.; LOPES, L.C.; FRANCO, R.C.; CORASSIN, C.H. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 508-515. 2011.

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: Ed. UFRGS, p. 44-57. 2001.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades estruturais e físico químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, p. 43-56. 2005.

STUMPF, M. T.; FISCHER, V.; KOLLING, G. J.; SILVA, A. V. da; RIBEIRO, M. E. R.; SANTOS, C. da S. dos. Behaviors associates with cows more prone to produce milk with reduced stability to ethanol test due to feeding restriction. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 9, p. 1662-1667. 2016.

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, p. 1137-1142. 2013.
WALSTRA, P. On the Stability of casein micelles. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 1965-1979. 1990.

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**. Dissertação de mestrado (Produção Animal). Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC. 2012.
WILLERS, C. D.; FERRAZ, S. P.; CARVALHO, L. S.; RODRIGUES, L. B. Determination of indirect water consumption and suggestions for cleaner production initiatives for the milk-producing sector in a Brazilian middle-sized dairy farming. **Journal of Cleaner Production**, v. 72, p. 146-152. 2014.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; KOLLING, G. J. **Leite Instável não ácido (LINA)** - Variações na composição do leite. Circular Técnica 166 (EMBRAPA). Pelotas, RS. 2015.

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

ZANELLA, M. B.; FISCHER, v.; RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; MARQUES, L. T.; STUMPF JUNIOR, 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.