

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA

CAMILA SOUZA DE AZEVEDO

OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)
NA REGIÃO DA GRANDE FLORIANÓPOLIS - SC

FLORIANÓPOLIS - SC

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA

CAMILA SOUZA DE AZEVEDO

**OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)
NA REGIÃO DA GRANDE FLORIANÓPOLIS - SC**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência para obtenção do Diploma de Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Professora Orientadora: Dra. Deise Helena Baggio Ribeiro

Co-orientadora: Dra. Ana Carolina Sampaio Doria Chaves

FLORIANÓPOLIS - SC

2014

Camila Souza de Azevedo

OCORRÊNCIA DE LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA) NA REGIÃO DA GRANDE FLORIANÓPOLIS - SC

Esta Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso foi julgada aprovada e adequada para obtenção do grau de Zootecnista.

Florianópolis, 27 de Junho de 2014.

Banca Examinadora:

Prof. ^a Dr. ^a Deise Helena Baggio Ribeiro
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Dr. ^a Ana Carolina Sampaio Doria Chaves
Co-orientadora
Pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos

Leonardo Marchado Barbosa
Médico Veterinário

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que me deu a oportunidade desta conquista e colocando em meu caminho as pessoas certas para que eu alcançasse tanto o crescimento acadêmico como pessoal.

À minha orientadora Dra. Deise Helena Baggio Ribeiro que aceitou meu projeto já no meio do percurso e abraçou a causa em prol do conhecimento científico com compreensão durante todo o processo.

À minha co-orientadora Dra. Ana Carolina Sampaio Doria Chaves até quando pode, me acompanhou e orientou com dedicação apoio.

A Universidade Federal de Santa Catarina, em especial o Centro de Ciências Agrárias seus servidores, professores e alunos que estiveram ao meu lado durante o processo. Aos professores do Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural que transmitiram seus conhecimentos e mediarão todo o processo de ensino e aprendizagem durante a minha formação.

Aos colegas que conviveram comigo durante os cinco anos de curso e que me ajudaram na conclusão de mais uma etapa, através de trocas e vivências. Dos quais destaco: Bruna Luize Gioppo Loch, Jaqueline Kuhnen Mayer, Priscila de Bastos Silva e Thais Coelho Bedinote.

Aos donos da empresa a qual foi realizada a pesquisa, que abriram as portas para que ocorresse este estudo.

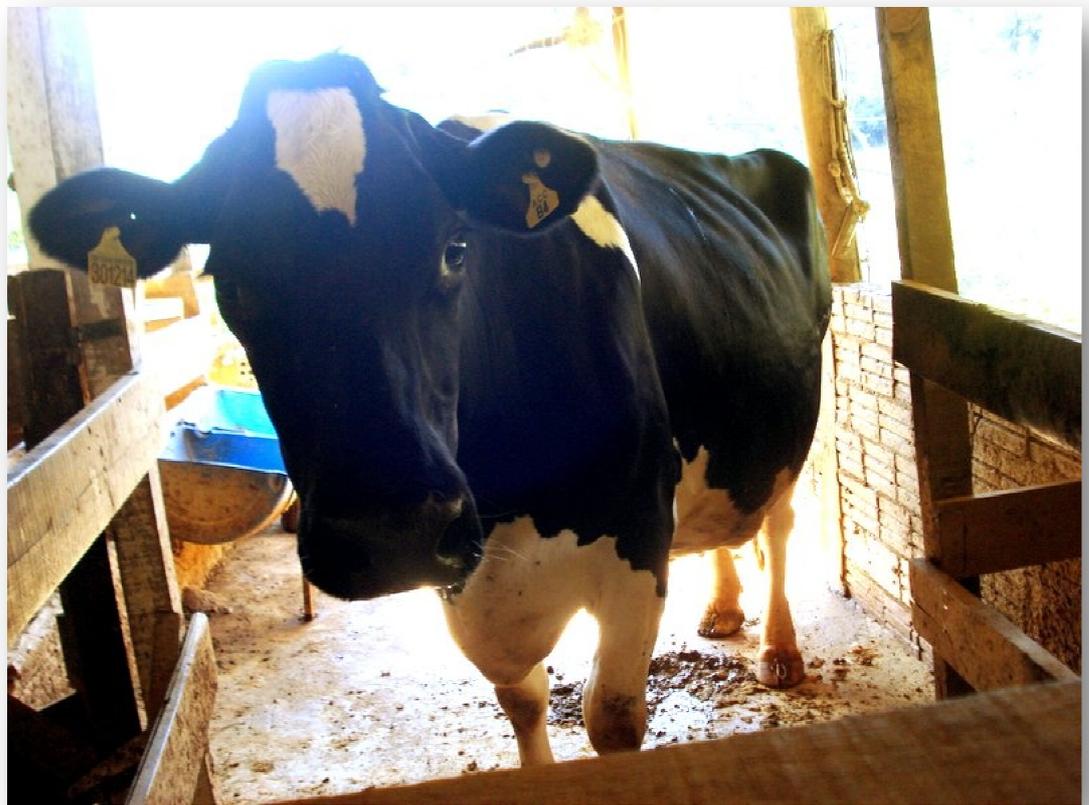
Ao responsável técnico da empresa que além de mediar o acordo entre a empresa e eu, levantou interesse na realização do presente estudo. Ao inspetor da empresa que auxiliou no dia-a-dia, ajudando em questões práticas sobre a rotina da empresa. Aos funcionários da empresa que me receberam de braços abertos e estavam sempre prontos a ajudar e a conversar sobre tudo.

As meninas que trabalham no laboratório da empresa que estavam sempre dispostas a ajudar nas análises além de ensinar sobre a rotina do laboratório e sobre a realização de diferentes testes feitos.

Aos meus familiares pelos exemplos, valores compartilhados e apoio nas horas difíceis. Aos meus pais que deram todo o suporte necessário para que eu chegasse até aqui e em especial a minha mãe que sempre esteve do meu lado me apoiando e consolando nos momentos mais difíceis.

Aos meus irmãos que me ajudaram cada um da sua forma, o Vinícius sempre descontraído nos momentos mais tensos e a Caroline que me ajudou como pode na parte estrutural e corretiva do trabalho.

Ao meu namorado que foi compreensivo durante todo o período turbulento da graduação.



Fonte: Estágio de vivência da autora.

“Zootecnista termina com 'lista' por três principais grandes motivos: o Geneticista, o Economista e, sobretudo o Nutricionista”. Luiz Caçador

RESUMO

O estudo teve como objetivo analisar a ocorrência de leite instável não ácido em propriedades fornecedoras de leite na região da Grande Florianópolis – SC. Para isto, no mês de maio de 2014 foram coletadas amostras de leite cru, diretamente do tanque de resfriamento, de 70 produtores/fornecedores de uma empresa de laticínios da região e analisadas em seu laboratório através dos testes de álcool etílico com duas graduações diferentes (72 e 78%). Os resultados foram determinados de acordo com a escala de intensidade da precipitação da caseína e o teste de acidez titulável, com solução Dornic. A ocorrência de precipitação do leite em solução hidroalcoólica de 72% foi de 47%, já nos resultados do teste com a maior concentração (78%), 81% de amostras foram positivas. Na classificação da tabela de intensidade ocorreu uma mudança significativa principalmente no grau 1 (considerado como leite estável), onde 70% das amostras se enquadraram neste grau quando analisadas na menor graduação alcoólica, decaindo para 22% das amostras na maior graduação alcoólica. O teste de acidez titulável mostrou que 70% das amostras estavam com uma acidez considerada normal, 29% estavam ácidas e 1% alcalina. Porém quando se analisam os testes conjuntamente, se observa que somente 16% das amostras de leite estão classificadas como normais, 29% como leite ácido, 1% como alcalino e 54% se enquadravam na classificação de leite LINA. Com estes resultados percebe-se a grande incidência de leite instável não ácido na região, necessitando de estudos mais aprofundados para a identificação da origem do problema e assim resolvê-los.

Palavras chave: Leite. LINA. Precipitação da caseína. Teste de acidez. Teste do álcool.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Escala de instabilidade do leite na prova do álcool	17
Figura 2A -	Resultado do teste do álcool com 72% de etanol.	18
Figura 2B -	Resultado do teste do álcool com 78% de etanol.	18
Figura 3 -	Classificação das amostras (positiva para prova do álcool com solução alcoólica de 72%) segundo a escala de Marque et al. (2007).	19
Figura 4 -	Classificação das amostras (positiva para prova do álcool com solução alcoólica de 78%) segundo a escala de Marques et al. (2007).	19
Figura 5 -	Registros dos do teste do álcool realizado em diferentes produtores.	20
Figura 6 -	Resultado do teste de acidez titulável.	21
Figura 7 -	Resultados de incidência de leite LINA nas amostras que apresentaram resultado positivo na prova do álcool.	21
Figura 8 -	Classificação das amostras de acordo com dos tipos de leites encontrados..	22

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. MATERIAL	16
3.2. MÉTODOS	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5. CONCLUSÃO	24
6. REFERÊNCIAS.....	25
7. APENDICE 1 – Formulário de registro de resultado	28

1. INTRODUÇÃO

O leite é essencial na vida dos mamíferos jovens auxiliando na construção de tecidos, preservação dos músculos, unhas e cabelos, já nos adultos, ele supre as necessidades de minerais do organismo. Entre os componentes do leite podem se destacar: as proteínas, as vitaminas e os minerais como o cálcio.

A pecuária leiteira nacional tem grande importância para a segurança alimentar e no suprimento de alimentos devido ao grande valor nutritivo, desempenhando assim um papel importante na alimentação da população e possui importância econômica, sendo grande geradora de empregos em todos os setores e em especial a venda do leite cru para o processamento de leite fluido, leite em pó, queijos, manteiga, doce e iogurte entre outros produtos. Porém, alguns fatores podem reduzir o crescimento do setor leiteiro, como por exemplo: a carência de mão-de-obra qualificada, a ineficiência da assistência técnica junto ao produtor, a nutrição não balanceada e o manejo precário, ocasionando assim doenças de diferentes problemas que podem resultar diretamente na redução da produtividade e na qualidade do leite e seus derivados.

Um dos problemas observados na qualidade do leite é a ocorrência do leite ácido devido a diversos fatores, entre eles: ineficiência na hora da higienização da ordenha, à conservação inadequada e falta de refrigeração, permitindo assim uma elevada multiplicação das bactérias que podem provocar a coagulação do leite durante o tratamento térmico e diminuição do tempo de vida útil do produto e derivados.

As bactérias lácticas, naturalmente presentes no leite cru, fermentam a lactose e produzem ácido láctico, a acidez desenvolvida pode ser detectada na prova do álcool ou do alizarol, uma vez que as proteínas são instáveis em pH baixo. O leite irá coagular no teste realizado no momento da coleta nas propriedades rurais, ocorrendo, portanto a coagulação da caseína na mistura com a solução alcoólica e também irá precipitar durante a pasteurização, dificultando assim o processo de pasteurização e aumentando o tempo de limpeza dos equipamentos.

Um novo problema que tem sido observado nos últimos anos é a ocorrência do leite LINA (leite instável não ácido). Este tipo de leite coagula no teste do álcool, caracterizando um resultado falso positivo. Sendo confundido com leite ácido, porém tem acidez normal. As proteínas se tornam instáveis por razões que ainda não foram totalmente elucidadas e como consequência este leite não é recolhido nas propriedades rurais pelo caminhão sendo normalmente descartado gerando prejuízo ao produtor.

A razão da ocorrência de leite LINA ainda está sendo estudada e os produtores rurais ainda têm dificuldades de diferenciá-la do leite ácido. É difícil saber a que está associada à ocorrência de leite LINA, podendo ser devido a questões genéticas, transtornos fisiológicos, nutricionais, metabólicos entre outros como a região e a época do ano.

A ocorrência de leite LINA tem causado prejuízos à cadeia produtiva do leite. O produtor muitas vezes não sabe que o seu leite é do tipo LINA, pois pode ter sido confundido com leite ácido deixando de buscar a origem do real problema e assim tomar as providências necessárias para que não ocorra mais. Para indústria este leite também é um problema, pois ele coagula durante o tratamento térmico e inviabiliza seu processamento assim como ocorre com o leite ácido.

Trabalhos realizados recentemente mostram que a composição do leite LINA e a sua qualidade microbiológica são muito próximas da exigida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Há estudos de alternativas para a utilização deste leite no processamento em derivados de leite que não necessitem de tratamento com elevadas temperaturas, como alguns queijos maturados e manteiga.

O objetivo geral deste trabalho foi determinar a ocorrência de leite instável não ácido (LINA) nas propriedades fornecedoras de leite para um laticínio situado na região da grande Florianópolis, SC. Os objetivos específicos foram analisar os resultados dos seguintes testes: teste de álcool com diferentes concentrações etanólicas e determinação da acidez titulável com solução de NaOH padronizada (solução Dornic).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), artigo 475, denomina-se leite como produto oriundo de ordenha completa e ininterrupta com condições de higiene, de vacas sadias e bem alimentadas (BRASIL, 1952).

O leite é uma secreção das glândulas mamárias de fêmeas mamíferas que na natureza é utilizado para suprir e proteger imunologicamente os filhotes dos mamíferos, sendo de grande importância nos primeiros meses de vida (CHAVES, 2011).

O leite vem sendo utilizado na alimentação humana há muito tempo pois oferece uma composição físico-química rica em nutrientes e energia, sendo considerado um dos alimentos *in natura* mais completos e, quando industrializado pode ser transformado em diversos derivados que devem ser devidamente inspecionados pelos órgãos competentes (TRONCO, 2008).

A composição físico-química do leite pode variar de acordo com: a raça do animal e sua genética, alimentação, estágio de lactação, idade, condição sanitária, questões fisiológicas, fatores ambientais (estação do ano, temperatura, etc.), manejo do rebanho, entre outros fatores. O leite possui em média 87% de água, 3,9% de gordura, 3,4% de proteínas, 4,8% lactose e 0,8% de minerais (CHAVES, 2011).

Segundo o IBGE (2013), no 2º trimestre do ano de 2013 a produção de leite do Brasil foi de 5 bilhões de litros, tendo um aumento de 2% em relação ao ano de 2012, sendo que 92,5% do leite foi oriundo de estabelecimentos com inspeção sanitária federal, 6,8% de inspeção estadual e 0,8% de inspeção municipal. Desta produção leiteira, 40% são referentes ao Sudeste do país e 34% do Sul. Minas Gerais é o estado que mais produziu leite cru, com uma produção de 1,4 milhões de litros e o estado de Santa Catarina obteve uma produção de 455 mil litros de leite.

O controle da qualidade, das características físico-química e microbiológicas do leite cru que chega à plataforma da indústria de laticínio é fundamental para se garantir um produto final de qualidade para o consumidor (TRONCO, 2008).

Com o objetivo de melhorar a qualidade do leite o governo instituiu o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), que são normas técnicas para regulamentar as exigências mínimas da qualidade do leite a ser fornecido aos laticínios. Em 2002, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução

Normativa (IN) nº 51 que estipula parâmetros de qualidade para o leite produzido no país tais como: o leite deve ter no mínimo: 3% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato seco desengordurado (estas análises devem ser realizadas a cada 15 dias em um laboratório credenciado pelo MAPA), acidez titulável entre 14 e 18 °D; o leite deve apresentar uma estabilidade em solução alcoólica de no mínimo 72 °GL de etanol; a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) para as regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste no ano de 2005 com valores máximos de CBT e CCS de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL, sendo os mesmos alterados para $7,5 \times 10^5$ nos anos de 2008 a 2011 e a partir de 2011 os valores diminuem para máximas de $1,0 \times 10^5$ para CBT e $4,0 \times 10^5$ para CCS. E esta IN também exigiu que o leite fosse transportado previamente resfriado e a granel (BRASIL, 2002).

O MAPA prorrogou algumas vezes o prazo para que os produtores de diferentes regiões do país atendessem a esta legislação, porém infelizmente, a maior parte deles não conseguiu atender ao padrão de qualidade exigido e em 2011 ela foi alterada pela Instrução Normativa nº 62. A NI 62/2011 encontra-se em vigor atualmente, cujos anexos são: Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do leite tipo A, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leite pasteurizado e Regulamento Técnico da Coleta de leite cru refrigerado com transporte a granel (BRASIL, 2011).

A IN 62/2011 é aplicável somente ao leite de vaca e os aspectos relacionados à remuneração ao produtor baseada na qualidade do leite devem ser estabelecidos mediante acordo setorial específico. A campanha lançada pela Confederação Nacional de Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA) contempla um projeto sobre produção de leite de qualidade no Brasil, atendendo as exigências legais da Instrução Normativa 62/2011, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

A Instrução Normativa 62/2011 estabelece valores de CCS e CBT máximos para os anos de 2012 a 2014 iguais a 6×10^5 células/mL e 6×10^5 UFC/mL respectivamente; para 2014 a 2016 de 5×10^5 células/mL e 3×10^5 UFC/mL respectivamente e a partir de 2016 de 4×10^5 células/mL e 1×10^5 UFC/mL respectivamente. Estes valores se aplicam para as regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste, para as demais regiões os prazos estabelecidos são diferenciados (BRASIL, 2011).

Para determinar a qualidade do leite recebido na indústria devem ser realizadas diversas provas, passando pelos testes de plataformas, que são mais rápidos, simples e fornecem uma resposta imediata para aceitar ou rejeitar o leite. Para uma avaliação da

qualidade de uma forma mais completa, o leite passa por testes completos e precisos, porém estes são mais demorados (CHAVES, 2011).

Segundo Tronco (2008), alguns dos testes de plataforma são: a prova do álcool, que indica a estabilidade do leite frente ao tratamento térmico; a prova do alizarol, que é uma combinação da prova do álcool juntamente com a indicação colorimétrica do pH do leite; e a determinação da densidade, para detecção de fraudes, como a adição de água no leite.

Segundo Ribeiro et al. (2008) o teste do álcool além de avaliar a termoestabilidade do leite, também é considerado como um indicador indireto de acidez no leite. Porém, observa-se que, nem todas as amostras que coagulam no teste do álcool realmente apresentam acidez acima de 18 °D. Por isso, a Embrapa Clima Temperado vem realizando estudos referentes ao Leite Instável Não Ácido (LINA), que tem como característica principal a perda da estabilidade da caseína, e quando é realizado o teste do álcool ou do alizarol, ele é confundido com leite ácido, porém sua acidez é normal.

A ocorrência do leite LINA tem sido relatada por vários pesquisadores em diferentes estados do Brasil, apresentando diferentes porcentagens. Segundo Zanela et al. (2009), que analisaram 2.396 amostras entre setembro de 2002 a agosto de 2003, a incidência mais elevada foi observada no Rio Grande do Sul, relatando a ocorrência de leite LINA em 55,2% das amostras, sendo 6,2% de leite alcalino e somente 1,8% de leite ácido.

Da mesma forma, em Alagoas, Souza et al. (2011) coletaram 276 amostras de leite. Destas, 119 apresentaram instabilidade ao teste do álcool, 78% das amostras foram classificadas como leite LINA e somente 22% das amostras analisadas era leite ácido. No período de dezembro de 2010 a março de 2011, Marx et al. (2011) analisaram 69 amostras de leite no estado do Paraná, encontrando 16 amostras alcalinas, 8 ácidas e 23 consideradas como de leite LINA.

Oliveira et al. (2011) analisaram 451 amostras do estado de São Paulo, divididas entre o período chuvoso (217 amostras) e período seco (234 amostras), sendo 36,18% positivas e 41,9% para o teste de álcool, respectivamente. Considerando o total de amostras positivas, 64,8% delas foram classificadas como LINA e 35,2% como leite ácido. Neste estudo não foi encontrada diferenças significativas nas porcentagens de sólidos totais, proteína e lactose; a contagem de células somáticas foi maior no leite LINA.

Também em relação à composição do leite, Zanela et al. (2009) encontraram resultados semelhantes de contagem de células somáticas, gordura, proteína e lactose, porém a porcentagem de sólidos totais e sólidos desengordurados foram mais baixas no leite LINA. Marques et al. (2007) encontraram porcentagens similares de gordura e proteína do leite, já o

teor médio de lactose foi inferior aos descritos na literatura, no entanto todos os componentes do leite LINA estavam em menor proporção quando comparados a valores encontrados na literatura dos componentes do leite normal, porém eles ainda encontravam-se de acordo com os recomendados.

As causas relacionadas à ocorrência do leite LINA ainda estão sendo estudadas, porém já foram identificados alguns fatores que predisõem a produção deste tipo de leite como transtornos fisiológicos, desequilíbrio nutricional, estresse calórico, questões genéticas, entre outros (ZANELA et al., 2012).

A Estação Experimental da Embrapa Clima Temperado realizou um experimento piloto de indução experimental a produção de leite LINA, onde Zanela et al. (2006) utilizaram 8 vacas Jersey confinadas divididas em dois grupos, um grupo recebeu dieta a vontade com 100% das necessidades de proteína bruta, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e de minerais e o segundo grupo recebeu 60% das exigências. Após 18 dias, os tratamentos foram invertidos entre os grupos. Os autores notaram que uma das vacas produziu LINA recebendo ambas as dietas, mostrando que a incidência deste leite não está somente relacionada à alimentação balanceada dos animais, podendo ser também um fator genético.

O planejamento nutricional do rebanho deve ser utilizado como primeira medida preventiva à ocorrência de leite LINA, pois a exigência nutricional dos animais é alta, e quando afetada, ocorre um reflexo automático na produção de leite. O balanço da dieta depende de diversos fatores como a produção de leite, o teor de gordura, o estágio de lactação em que o grupo de animais se encontra e a qualidade do alimento, com isso a formulação de uma dieta deve ser realizada analisando os animais da propriedade em questão, não existindo uma fórmula que atenda a todos os produtores. O planejamento deve ser feito para o ano todo, considerando o período de lactação em que o animal se encontra, e as estações do ano, programando o fornecimento de forragens conservadas para o período de escassez alimentar (ZANELA et al., 2012).

Fischer et al. (2005) no município de Pelotas, RS, verificaram se o suprimento dos nutrientes poderia afetar o peso vivo de vacas em lactação, a produção de leite e a redução da instabilidade da caseína do leite no teste do álcool. Para isto foram selecionadas 12 vacas da raça Holandesa que produzissem leite positivo ao teste do álcool (76%), divididas em dois grupos, um recebendo a dieta controle, ou seja, a mesma dieta que os animais já estavam recebendo e a dieta alternativa, suprimindo 100% das necessidades nutricionais, calculada conforme o peso, a produção de leite e o teor de gordura. Os resultados mostraram um

aumento significativo no peso dos animais (42 Kg), na produção diária de leite (5,9 L/dia) e na porcentagem de gordura (0,58%), porém não foram encontradas diferenças significativas para o teste de álcool e não ocorreu à reversão do leite LINA somente com este aporte nutricional. Os autores concluíram que outras características ligadas ao animal também influenciam na ocorrência da instabilidade ao álcool, como o excessivo número de dias em lactação, já que os animais deste experimento se encontravam em adiantado estágio de lactação, uma média de 345 dias, onde o período ideal seria de 305 dias de lactação, podendo ser que isto tenha influencia na incidência de LINA.

No noroeste do Rio Grande do Sul Zanela et al. (2009) verificaram a ocorrência do LINA e sua variação entre os meses de setembro de 2002 e agosto de 2003, conseguindo abranger todas as estações do ano. Foram monitoradas 200 propriedades, sendo colhida uma amostra por mês, diretamente do tanque do resfriador, totalizando 2.396 amostras. Relataram a ocorrência de 55,2% de leite LINA, 36,9% das amostras eram normais, 6,1% alcalinas e 1,8% ácidas. A porcentagem de leite LINA durante os meses de estudo variou consideravelmente, sendo encontrados nos meses de fevereiro e março os maiores valores (74,8 e 74,7% respectivamente). Estes meses compreendem o final do verão e o início do outono, o período de menor ocorrência foi no inverno (julho e agosto) com 23,3 e 23,5% de leite LINA.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

O estudo foi desenvolvido em uma empresa de laticínios situada na região da Grande Florianópolis¹, Santa Catarina, no período de abril a junho de 2014. As coletas de leite cru foram realizadas no mês de maio de 2014, diretamente do tanque de resfriamento das propriedades fornecedoras da matéria prima para a Usina de Beneficiamento. Segundo o cadastro da empresa, eles têm 237 fornecedores, entre eles foram selecionados 70 produtores (aproximadamente 30%), de acordo com o horário de saída/retorno do caminhão da empresa. O procedimento de coleta foi realizado pelos responsáveis pelo transporte do leite até a indústria, que foram devidamente treinados para realizar a coleta homogênea de 50 mL de leite cru, armazenar as amostras em frascos identificados e transportar em caixas isotérmicas refrigeradas até a empresa.

Estas amostras foram analisadas no laboratório da empresa, os resultados foram registrado no formulário apresentado no Apêndice 1 e também fotografados.

3.2. MÉTODOS

Ao chegar à empresa, as amostras foram armazenadas em geladeira por no máximo 12 horas, em temperatura adequada (7°C), até a realização dos testes de álcool e acidez titulável.

Segundo a IN 62/11, para a realização da prova do álcool a concentração mínima deve ser de 72% volume/volume (v/v), sendo muito comum entre os laticínios utilizar concentrações maiores. As amostras foram analisadas utilizando concentrações etanólicas de 72 e 78% (v/v).

Para preparar as soluções foi realizada a diluição de etanol comercial 96%, utilizando-se a fórmula: $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$, onde C_1 é a concentração desejada de solução final; V_1 é o volume desejado de solução final; C_2 a concentração inicial e V_2 é o volume final de etanol.

O teste do álcool foi realizado em placas de Petri nas quais foram pipetadas 2 mL de leite cru e 2 mL da solução de álcool (com as diferentes %) e em seguida foi realizada uma

¹ De acordo com a Secretaria do Estado do Desenvolvimento Regional, são designados municípios da grande Florianópolis: Águas Mornas, Angelina, Anitápolis, Antônio, Carlos, Biguaçu, Florianópolis, Governador Celso Ramos, Palhoça, Rancho Queimado, Santo Amaro da Imperatriz, São Bonifácio, São José e São Pedro de Alcântara (<http://www.soo.sdr.sc.gov.br>)

leve agitação para promover a homogeneização e leitura do resultado, o qual foi comparado com a escala de instabilidade do leite na prova do álcool, desenvolvida pela Embrapa Clima Temperado, em parceria com a Universidade Federal de Pelotas - UFPEL (MARQUES et al., 2007).

A escala proposta leva em consideração a intensidade de precipitação da caseína. Ela tem cinco níveis, onde no primeiro nível não se observa precipitação, ou seja, o leite encontra-se estável; do segundo em diante o leite é classificado como instável, porém, no segundo nível ele apresenta uma leve precipitação com grumos semelhantes à areia; no terceiro a precipitação é média com grumos mais espessos distribuídos uniformemente pela placa; no quarto há precipitação intensa com a formação de grumos maiores localizados em alguns pontos da placa e no quinto com precipitação muito intensa com a formação de um coágulo semelhante a uma rede. A escala desenvolvida de Embrapa para classificar o LINA em diferentes graus pode ser observada na Figura 1.

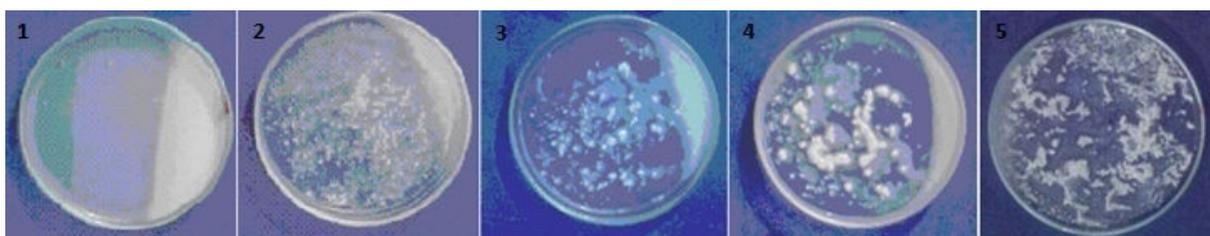


Figura 1 - Escala de instabilidade do leite na prova do álcool. Fonte: Marques et al., 2007.

Após a prova do álcool foi realizado o teste de acidez titulável (% de ácido láctico) e acidez Dornic (em °Dornic ou °D) por meio de uma titulação com solução padronizada de NaOH. O leite é classificado como ácido quando apresenta uma acidez acima de 18°D e classificado como alcalino quando a acidez for inferior a 14°D e o leite instável não ácido e os leites classificados como normais foram aqueles que apresentaram uma acidez entre 14 e 18°D.

Todos os testes foram realizados de acordo com a Instrução normativa N°68/2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006).

Na análise dos resultados, para cálculo das médias e desvio padrão foi utilizado o programa Excel® 2010 (Windows).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foram comparados os resultados obtidos na prova do álcool utilizando as diferentes concentrações da solução hidroalcoólica. Nas Figuras 4A e 4B, é possível observar que com a menor concentração de etanol (72%) em 47% das amostras coletadas ocorreu precipitação da caseína. Na maior concentração (78%) 81% das amostras foram positivas (Figuras 2A e 2B). Este aumento da precipitação está relacionado com o aumento da graduação alcoólica da solução. Importante ressaltar que independente da amostra ter coagulado na graduação 72% ela foi testada também na graduação 78%.

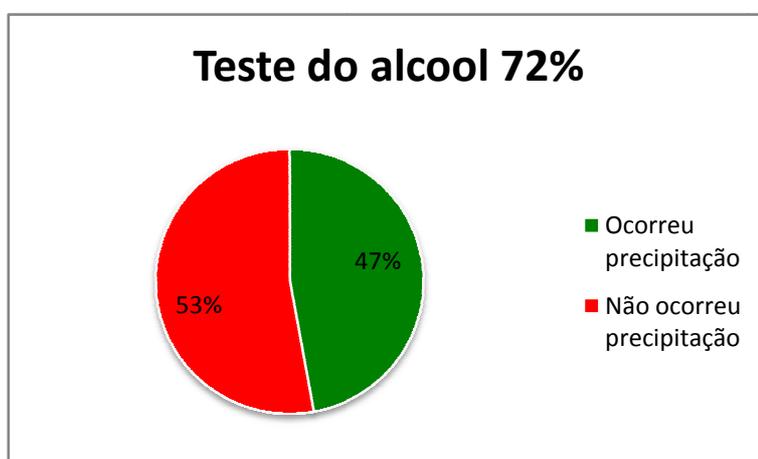


Figura 2A - Resultado do teste do álcool com 72% de etanol. Fonte: Autoria própria.

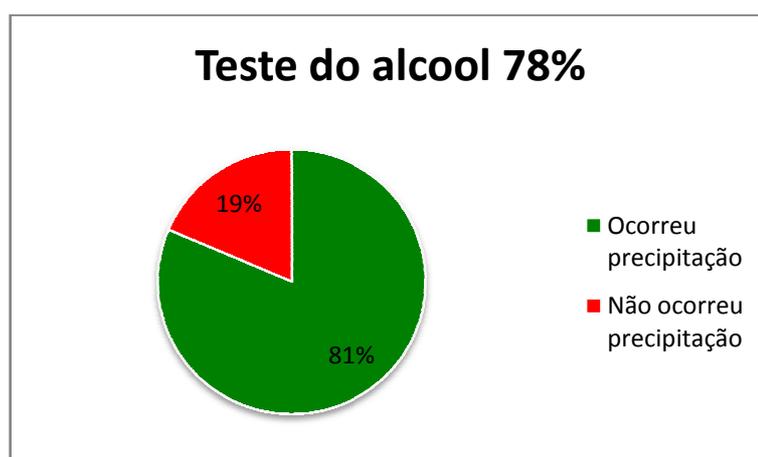


Figura 2B - Resultado do teste do álcool com 78% de etanol. Fonte: Autoria própria.

De acordo com Silva et al. (2012) que coletaram amostras de propriedades leiteiras da região do Norte Pioneiro do Paraná, entre os meses de junho e julho e analisaram 83 amostras avaliando sua estabilidade na prova do álcool nas graduações de 68, 72, 76 e 78%, foi

observada a intensificação da instabilidade da caseína conforme ocorre o aumento da graduação alcoólica, resultando em um aumento gradativo de amostras de leites instáveis. Porém, nem todas as pesquisas observam o mesmo comportamento, visto que Oliveira et al. (2011) realizaram seu estudo na região nordeste do Estado de São Paulo, coletando amostras mensais nos períodos chuvoso e seco, totalizando 451 amostras, não observaram aumento da precipitação da caseína com o aumento da concentração de álcool na solução.

Os resultados do teste do álcool foram classificados segundo a escala desenvolvida por Marques et al. (2007) com relação à precipitação da caseína. Os resultados podem ser observados nas Figuras 3 e 4.

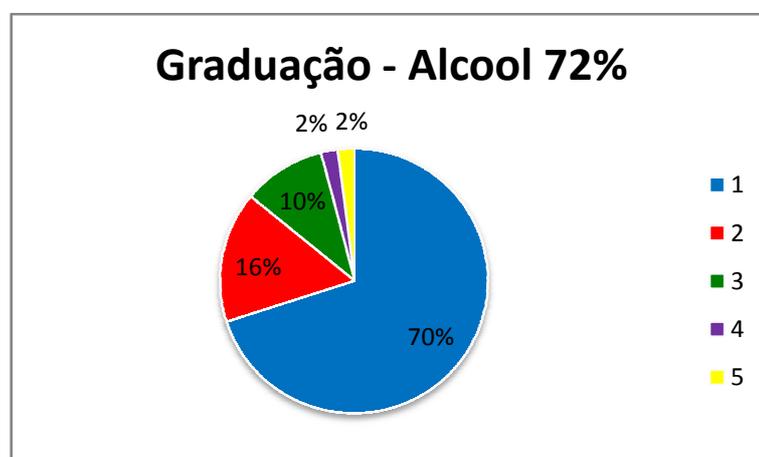


Figura 3 - Classificação das amostras (positiva para prova do álcool com solução alcoólica de 72%) segundo a escala de Marques et al. (2007). Fonte: Autoria própria.

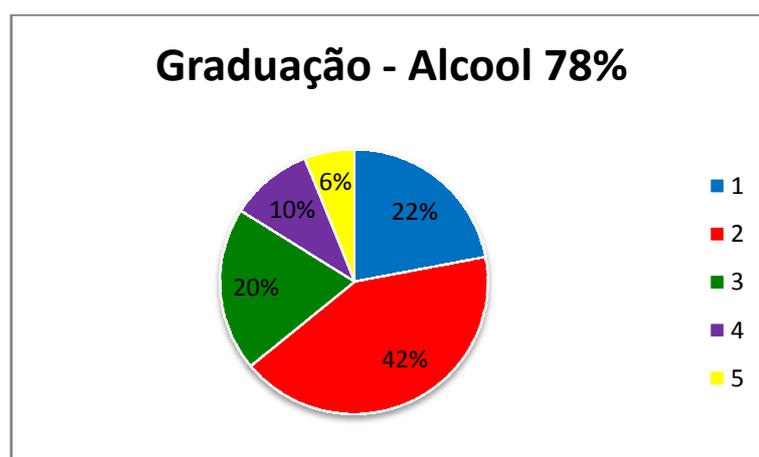


Figura 4 - Classificação das amostras (positiva para prova do álcool com solução alcoólica de 78%) segundo a escala de Marques et al. (2007). Fonte: Autoria própria.

Na Figura 3 observa-se que grande parte das amostras seriam classificadas no grau um da escala (70% das amostras não coagularam). Somente 30% das amostras foram classificadas

entre grau dois e cinco, ou seja, apresentaram coagulação significativa da caseína, sendo que 16% foram classificadas com grau dois, 10% com três e 2% em grau quatro e cinco. Enquanto que na Figura 4 observa-se uma mudança significativa, aumentando o teor alcoólico da solução, somente 22% das amostras se enquadraram no grau um, 42% das amostras foram classificadas na escala com grau dois, 20% das amostras com grau três, 10% em grau quatro e 6% em grau cinco.

Na Figura 4 também pode ser observado que grande parte das amostras que se enquadraram no grau um para o teste de álcool na concentração de 72%, passaram para o grau dois quando testadas na concentração maior (78%). No entanto, dentro de cada graduação pode-se observar que ocorreu um decréscimo no número de amostras conforme aumentou o número da escala de instabilidade do leite. De acordo com Marques et al. (2007), há uma tendência decrescente na porcentagem de amostras conforme aumenta a intensidade das reações frente à prova do álcool. Segundo os autores a reação do teste de álcool na escala dois é bastante leve podendo não ser perceptível pelo transportador, pois o teste realizado por ele é feito com o auxílio do alcoômetro, não sendo tão preciso quanto um teste realizado em um laboratório de controle de qualidade com pessoas treinadas, podendo as amostras desta escala (2) passar despercebidas sendo enquadradas como normais.

Na Figura 5 podem-se observar diferentes graus de precipitação da caseína de amostras de diferentes produtores.

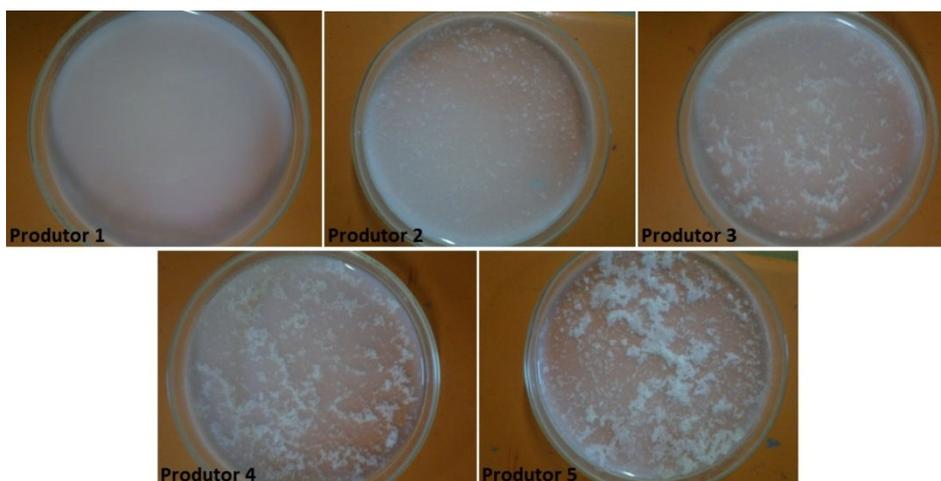


Figura 5 - Registros dos do teste do álcool realizado em diferentes produtores. Fonte: Autoria própria.

O teste de acidez titulável foi realizado com solução de NaOH padronizada. 70% das amostras apresentaram uma acidez normal, 29% das amostras foram consideradas ácidas e 1% como alcalina, como pode ser observado na Figura 6.

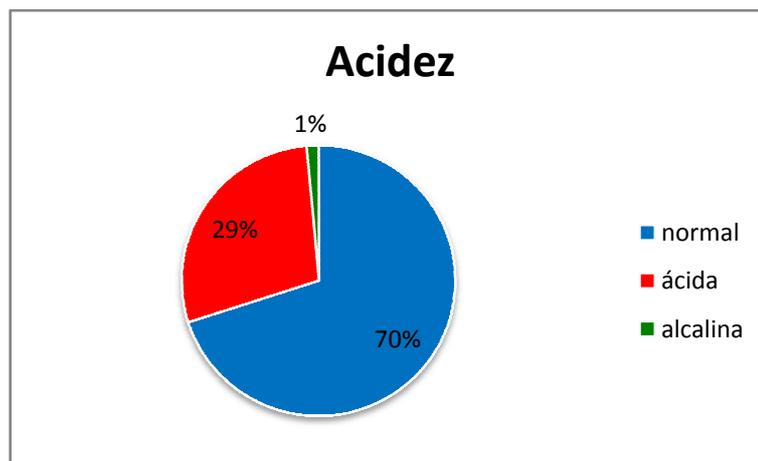


Figura 6 - Resultado do teste de acidez titulável. Fonte: Autoria própria

Souza et al. (2011) durante o mês de fevereiro de 2011, coletaram 276 amostras de leite cru de 8 propriedades, no município de Viçosa, Alagoas, com relação à acidez Dornic ele observou resultados diferentes dos encontrados neste trabalho, onde foram encontradas 83% de amostras dentro da normalidade, 9% estavam ácidas e 8% estavam alcalinas. Com isto constata-se que somente com este teste, boa parte das amostras de leites considerados como leite LINA não seriam assim identificadas.

Para avaliar a incidência de leite LINA nas amostras é fundamental realizar tanto o teste de álcool, quanto à determinação da acidez titulável. Observando os resultados apresentados na Figura 7 é possível verificar a incidência de leite LINA consideravelmente alta, pois das 58 amostras que foram consideradas como ácidas no teste do álcool, 66% destas na realidade se enquadrariam como LINA e 34% podem realmente ser consideradas ácidas.

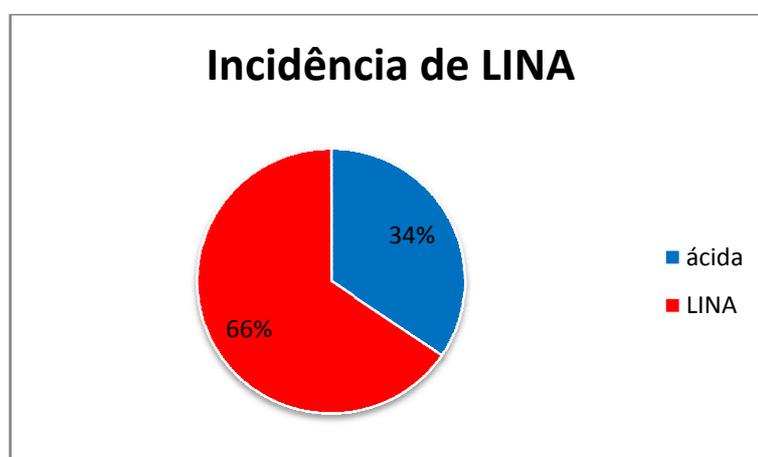


Figura 7 - Resultados de incidência de leite LINA nas amostras que apresentaram resultado positivo na prova do álcool. Fonte: Autoria própria.

Em São Paulo, foram encontrados resultados semelhantes aos observados nesta pesquisa, Oliveira et al. (2011) apresentaram resultados de amostras positivas para o teste do álcool (72%), coletadas no período seco e chuvoso, classificando 64,8% delas como LINA enquanto 35,2% como leite ácido.

Enquanto Souza et al. (2011) encontraram uma maior incidência de leite LINA, das 119 amostras que se encontravam instáveis no teste do álcool, 78% foram classificadas como de leite LINA e somente 22% como leite ácido.

Ciprandi, Pereira, Pinto (2012) analisando 92 amostras de leite diretamente dos tanques de uma Usina de Beneficiamento da região metropolitana de Porto Alegre/RS, entre os meses de agosto e setembro de 2008, classificaram, 33,7% das amostras como sendo de leite LINA, 22,82% foram alcalinas e somente uma amostra era ácida (1,08%) e o restante das amostras foram caracterizadas como normal.

Na Figura 8 consegue-se observar com mais clareza a incidência de todos os tipos de leite encontrados neste estudo, onde 16% estão classificados como amostras normais (entre 14 e 18°D), 29% como leite ácido (>.18°D), 54% como leite LINA (entre 14 e 18°D) e somente 1% como alcalino (<14°D).

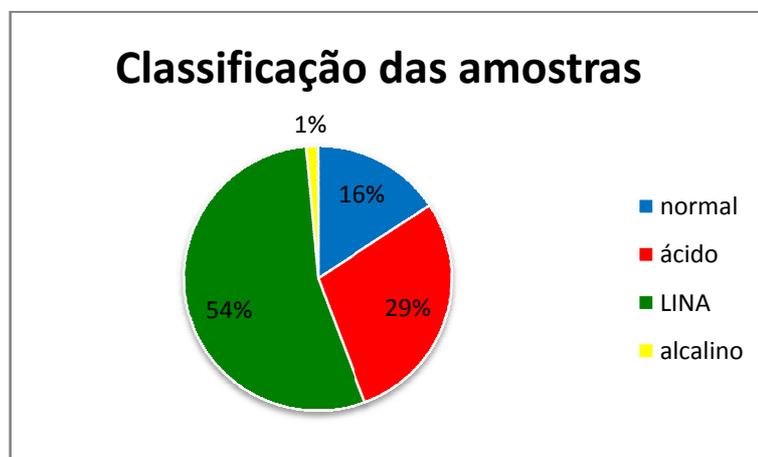


Figura 8 - Classificação das amostras de acordo com dos tipos de leites encontrados.
Fonte: Autoria própria.

Marx et al. (2011) analisando 69 amostras de leite coletados de tanques de resfriamento de produtores da região Oeste do Paraná, entre o período de dezembro a março, observaram resultados diferentes, pois 32% das amostras foram consideradas normais, somente 12% eram ácidas, 23% eram alcalinas e 33% se enquadravam como LINA.

Zanela et al. (2009) em um estudo realizado no noroeste do Rio Grande do Sul, entre os meses de setembro/2002 e agosto/2003 analisando 2.396 amostras coletadas mensalmente

de 200 unidades de produção leiteira, observaram a ocorrência de leite LINA em 55,2% das amostras, 36,9% foram consideradas normais, 6,1% foram classificadas como alcalinas e apenas 1,8% como ácidas. Este estudo verificou ainda que exista uma variação da ocorrência de leite LINA durante os meses em estudo, sendo esta mais elevada no final de verão e início de outono. Segundo os autores, há variações sazonais na ocorrência do leite instável, entretanto estes períodos de ocorrência mais elevada dependem também da região em que está sendo realizado o estudo.

5. CONCLUSÃO

Neste estudo buscou-se avaliar a incidência de leite instável não ácido na região da Grande Florianópolis através dos testes de álcool nas concentrações de 72% e 78% e do teste de acidez titulável com solução Dornic. Através das análises propostas pelo estudo conclui-se que mais da metade (54%) das amostras coletadas foram classificadas como LINA, possuindo uma instabilidade ao teste do álcool, mas uma acidez considerada normal, em seguida encontra-se valores consideráveis (29%) de leite ácido e somente 16% classificadas como normais. Com estes resultados consegue-se ter uma noção dos reais problemas encontrados pela indústria em relação ao leite, e que são necessárias medidas voltadas ao manejo alimentar do animal e cuidados de limpeza e higiene do rebanho e dos procedimentos de ordenha, conservação e transporte do leite. Utilizando estes cuidados, a incidência de leite LINA e ácido poderia ser reduzida, para isto é necessário que os profissionais da área sejam atuantes na prestação da assistência técnica e que os produtores se engajem para melhorar as práticas adotadas.

Análises complementares poderiam ser feitas nas amostras de leite tais como composição centesimal, contagem bacteriana total e contagem de células somáticas. O conjunto destes resultados nos ajudaria a identificar as possíveis causas do problema (alimentar, genética, entre outros), para junto ao produtor propor soluções de manejo e controle do rebanho que possam impactar na qualidade do leite.

6. REFERÊNCIAS

BRASIL, Decreto N.º 30.691, de 29 de março de 1952. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal** (RIISPOA).

BRASIL. Instrução Normativa N°51 de 18 de setembro de 2002. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru e refrigerado**. Diário Oficial, Brasília, 20 set. 2002. Seção 1, p.13.

BRASIL. Instrução Normativa N° 62 de 29 de dezembro de 2011. **Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do leite tipo A, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leite pasteurizado e Regulamento Técnico da Coleta de leite cru refrigerado com transporte a granel**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Distrito Federal, DF

BRASIL. Instrução Normativa N° 68 de 12 de dezembro de 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos**. Distrito Federal, DF.

CIPRANDI, A.; PEREIRA, B. P.; PINTO, A. T. Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em uma usina de beneficiamento da região metropolitana de Porto Alegre/RS. **Veterinária em Foco**, v.9, n.2, p.128 jan./jun. 2012.

CHAVES, A. C. S. D. Leites. *In*: KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 147-185.

FISCHER, V.; MARQUES, L T.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; RODRIGUES, C. M.; PETERS, M. D. P.; HERRMANN, D.; MANZKE, N. E. **Tratamento do leite instável não ácido (Lina) em rebanho leiteiro através do manejo alimentar**. *In*: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia (42: 2005: Goiânia). Anais... Goiânia: SBZ, 2005. 5 p. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/agronomia/materiais/515220.pdf>>. Acessado dia: 01/04/2014.

IBGE. **Indicadores IBGE**: Estatística da Produção Pecuária Setembro 2013. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/aba-te-leite-couro-ovos_201302_publ_completa.pdf>. Acessado dia: 19/11/2013.

MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF, W. J.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira Agrocência**, Pelotas, v.13, n.1, p.91-97, jan-mar, 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, nº 1, Jan/Jun., 2011.

OLIVEIRA, C. A. F.; LOPES, L. C.; FRANCO, R. C.; CORASSIN, C. H. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** Salvador, v.12, n.2, p.508-515 abr/jun, 2011.

RIBEIRO, M. E. R.; MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; STUMPF, W. Jr.; FISCHER, V. **Nova Metodologia para Verificação do Leite Instável não Ácido (LINA)**. Embrapa. Comunicado Técnico. Dezembro, 2008. Pelotas, RS. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/746791/1/comunicado203.pdf>>. Acessado em: 21/10/2013.

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. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, Jan/Fev, nº 384, v.67, p. 55-60, 2012.

SOUZA, P. P. M.; SOARES, K. D. A.; LIMA FILHO, C. F.; MOTA, R. A.; SILVA, M. C. D.; MEDEIROS, E. S. Ocorrência do leite instável não ácido em vacas leiteiras no município de Viçosa- AL., Uberlândia, **Veterinária Notícias**.v.17. n.2, p. 144-147, jul./dez. 2011. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/vetnot/article/view/19597>>. Acessado dia: 21/10/2013.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria. 3ª Edição. Editora Universidade Federal de Santa Maria, 2008. 203 p.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, V. F.; RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; MARQUES, L. T. STUMPF, W. Jr.; ZANELA, C. **Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar**. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.41, n.5, p.835-840, maio, 2006.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; GOMES, J. F.; STUMPF, W. Jr. 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.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; ABREU, A. S. **Estratégias e prevenção para tratamento e prevenção do LINA**. Embrapa Clima Temperado. Estação Experimental Terras Baixas - 2012. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/eventos/2012/producao_de_leite/panfletos/02-1.pdf>. Acessado dia: 19/11/2013.

7. APENDICE 1 – Formulário de registro de resultado

Produtor	Álcool 72%	Nº tabela	Álcool 78%	Nº tabela	Acidez