

EPAMIG

29º Congresso Nacional de Laticínios

Instituto de Laticínios Cândido Tostes



EFEITO DA TEMPERATURA DAS AMOSTRAS DE LEITE NA CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO SOLÚVEL E DE BETA-CASEÍNA: INTERFERÊNCIA NO TESTE DE ESTABILIDADE AO ETANOL

Effect of milk samples temperature on the concentration of soluble calcium and beta-casein: Interference with ethanol stability test

Fabiano Freire COSTA¹
Maria Aparecida Vasconcelos Paiva BRITO¹
Guilherme Nunes de SOUZA¹
Danielle Braga Chellini PEREIRA²
Marta Fonseca MARTINS¹
Isabella Silvestre Barreto PINTO¹

1. Introdução

O teste da estabilidade do leite ao álcool (etanol) foi introduzido por volta de 1890, na Alemanha, para avaliar a presença de acidez desenvolvida por contaminação bacteriana, quando não era comum o uso de refrigeração para a conservação do leite. A aplicação desse teste com essa finalidade foi abandonada nos países desenvolvidos, devido à melhora na qualidade microbiológica e porque problemas na estabilidade do leite associados à estação do ano, dieta e estágio da lactação e saúde da glândula mamária foram reconhecidos (HORNE, 2003).

Estudos mostraram que ocorrem variações nas propriedades físico-químicas do leite em função da temperatura, do pH e da concentração de sais. Entre as modificações que acontecem durante o processo de resfriamento do leite estão incluídas a dissociação das caseínas, especificamente a β -caseína, solubilização do fosfato de cálcio coloidal e diminuição no tamanho das micelas (ALI et al., 1980; HORNE, 2003).

De maneira geral, não há recomendação sobre a temperatura do leite para a realização do teste do álcool. Após pesquisa em diversas fontes, foram encontradas as recomendações da temperatura de 15 e 25°C (MUR, 1966), ou a 21°C (REVILLA, 1982). No Brasil, o teste do álcool (alizarol) é realizado, em geral, imediatamente antes da coleta do leite nas propriedades rurais, quando a temperatura de manutenção do leite está na faixa de 3 a 7° C. Considerando as alterações do complexo caseinato do leite relacionadas à temperatura de refrigeração, em especial

¹Embrapa Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento 610, Bairro Dom Bosco, CEP 36038-330, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

²Instituto de Laticínios Cândido Tostes / Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Rua Ten. Luiz de Freitas, 116 - Santa Terezinha - CEP: 36045-560 - Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

a dissolução do fosfato de cálcio associado às caseínas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a variação do perfil proteico e do cálcio solúvel na coagulação do leite pelo etanol nas temperaturas de 4°C, 10 °C, 15 °C e 20 °C.

2. Material e métodos

Amostras de leite de 61 animais individuais da raça Holandesa em diferentes estágios de lactação, escolhidos aleatoriamente, foram coletadas em frascos estéreis e acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo. Cada amostra foi dividida em quatro partes de cerca de 100 ml cada e mantidas a 4°C/24 horas. As amostras foram incubadas nas temperaturas de 4°C, 10°C, 15°C e 20°C. Após a estabilização da temperatura, cada amostra foi testada frente a concentrações de etanol variando de 66 a 96%, com intervalos de 2% (v/v) (BRASIL, 1981).

Amostras de leite de três animais foram submetidas à ultracentrifugação em quadruplicata (40.000 x g) a 4°C e a 20°C por 60 minutos. O sobrenadante foi separado para análise do perfil protéico e cálcio solúvel. O perfil proteico foi determinado pela técnica de eletroforese microfluídica (Agilent 2100 Bioanalyzer; Agilent Technologies GmbH, Germany). A determinação do cálcio solúvel foi feita pela técnica de via úmida e leitura através de espectrofotômetro de absorção atômica (Spectra AA 800, Varian, EUA). Foi usado o teste t para determinar a significância das diferenças entre os tratamentos.

3. Resultados e discussão

De acordo com os resultados (Tab.1) verificou-se que quando a temperatura das amostras de leite foi de 4°C, a concentração média da solução alcoólica necessária para causar a coagulação das amostras foi de 82,59 %. Quando a temperatura das mesmas amostras foi de 10°C, 15°C e 20°C, as concentrações médias da solução de etanol que causaram a coagulação das amostras foi de 83,67%, 85,67% e 87,44%, respectivamente. Esses resultados mostraram que, à medida que a temperatura das amostras foi aumentada, a estabilidade ao etanol foi maior ($P < 0,001$). A distribuição de frequência da estabilidade das amostras ao etanol, para concentrações maiores e menores que 80% (v/v) mostrou que, quando as amostras foram mantidas a 4°C, 27,9% coagularam em concentrações alcoólicas menores que 80% (v/v). Os valores percentuais diminuíram à medida que a temperatura das amostras aumentou.

Tabela 1. Efeito da variação da temperatura de 61 amostras de leite de animais individuais na estabilidade ao teste do etanol e porcentagem das amostras coaguladas na concentração do etanol maior e menor que 80% (v/v).

Amostras	Temperatura			
	4°C	10°C	15°C	20°C
% (v/v) etanol	82,59 ^a	83,67 ^b	85,67 ^c	87,44 ^d
Desvio padrão	5,07	4,81	4,13	3,90
Coagulação ≤ 80%	27,9	23,0	9,8	4,9
Coagulação > 80%	72,1	77,0	90,2	95,1

*Médias com letras diferentes são diferentes estatisticamente ($P < 0,001$) ao Teste t para amostras pareadas.

Nas amostras ultracentrifugadas a 4°C (Tab. 2), a concentração de cálcio solúvel (0,042%) foi maior ($P < 0,05$) que a concentração presente nas amostras ultracentrifugadas a 20°C (0,036%). Comparando os picos detectados nas amostras de leite submetidas às temperaturas de 4°C e 20°C respectivamente (Tab. 3), foi possível observar uma variação na quantificação das proteínas das três amostras de leite sendo que a β -caseína apresentou maior variação em quantidade.

Tabela 2. Concentração do cálcio solúvel nas amostras de leite submetidas a ultracentrifugação nas temperaturas de 4°C e 20°C.

Temperatura (°C)	Porcentagem do cálcio iônico nas amostras de leite			
	A	B	C	Média Geral
4	0,050 ^a	0,042 ^a	0,036 ^a	0,042 ^a
20	0,039 ^b	0,035 ^b	0,029 ^b	0,034 ^b

*Na coluna, médias com letras diferentes são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$) ao teste t.

Tabela 3. Porcentagem de proteínas presentes no sobrenadante após ultracentrifugação a 4°C e 20°C.

Temperatura (°C)	Proteínas (%)				
	α -La	β -Lg	β -Cas	α -Cas	κ -Cas
4	9,2 ^a	14,2 ^a	54,2 ^a	16,2 ^a	0,87 ^a
20	11,2 ^a	17,5 ^a	49,3 ^b	13,6 ^b	0,83 ^a

*Na coluna, médias com letras diferentes são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$) ao teste t.

É possível a diferença de migração da β -caseína da forma micelar agregada para a forma molecular dispersa na fase solúvel do leite bem como a dissolução do fosfato de cálcio coloidal contribua para a maior instabilidade das amostras de leite ao etanol nas temperaturas de refrigeração. Com essa migração da β -caseína, as

micelas diminuem de tamanho liberando água e íons cálcio para a fase aquosa do leite. Esse fato pode causar alteração nas cargas micelares totais, o que ocasionaria maior capacidade de agregação entre as micelas e dessa forma, influenciaria o ponto de coagulação do leite frente ao etanol (GAUCHERON, 2005; COSTA et al., 2008).

4. Conclusões

Os resultados mostraram que a temperatura tem efeito importante sobre a concentração de cálcio total e de β -caseína na fase solúvel no leite, e esse efeito foi mais evidente a 4°C. Considerando que muitas vezes o teste do álcool é realizado no Brasil em temperaturas que variam de 3 a 7°C, é recomendável a repetição do teste a 21°C, em casos duvidosos.

ABSTRACT

Milk samples from 61 dairy cows were evaluated for stability to ethanol concentrations from 66 to 92% (v/v) at temperatures of 4°C, 10°C, 15°C and 20°C. Three samples were ultracentrifuged (40,000 x g) at 4°C and 20°C, for 60 minutes. Their supernatants were removed and subjected to analyses of soluble calcium through atomic absorption spectrophotometry. The protein profiles were determined by microfluidic electrophoresis. The results showed a positive correlation between the increase in temperature of the samples and the stability of milk against ethanol. The percentage of soluble calcium in the supernatant after centrifugation was higher in samples treated at 4°C ($P < 0.05$). The samples ultracentrifuged at 4°C showed higher amounts of β -casein in the supernatant compared with samples stored at 20°C. The lowering of the temperature favored the migration of β -casein and colloidal calcium to the soluble phase of milk which favored the instability of milk in the test of ethanol. It is concluded that the milk samples for the alcohol stability test should be at 21°C.

Referências bibliográficas

ALI, A.E.; ANDREWS, A.T.; CHEESEMAN, G.C. Influence of storage of milk on casein distribution between the micellar and soluble phases and its relationship to cheese-making parameters. *J. Dairy Res.*, v. 47, p. 371-382, 1980.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes.** II Métodos físico-químicos. Aprovado pela Portaria n. 001, de 07/10/81. Brasília, 123p. 1981.

COSTA, F.F.; RESENDE, J.V.; ABREU, L.R.; GOFF, H.D. Effect of calcium chloride addition on ice cream structure and quality. *J. Dairy Sci.*, v. 91, n. 6, p. 2165-2174, 2008.

GAUCHERON, F. The minerals of milk. *Reprod. Nutr. Develop.*, v. 45, p. 473-483, 2005.

HORNE, D.S. Ethanol stability. In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. (Ed.). **Advanced Dairy Chemistry**. 3 ed. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2003, v. 1: Proteins, p. 975-999.

MUR, A. G. **Técnicas Modernas Aplicadas al Análisis de la Leche**. Madrid: Editorial Dossat S. A., 1966. 445 p.

REVILLA, A. **Tecnología de la leche: procesamiento, manufactura y análisis**. 2. ed. ver. San Jose, Costa Rica: IICA, 1982. 400 p. (p. 340-341).



ISSN 2176-0810

**Anais do
29º Congresso Nacional de Laticínios**

16 a 19 de Julho de 2012
Juiz de Fora - Minas Gerais



AGRICULTURA,
PECUÁRIA E
ABASTECIMENTO

