

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

MILAINE ELIAS DORNELAS DUQUE

**CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO IÔNICO E ESTABILIDADE PROTEICA EM
LEITES PROCESSADOS: UMA REVISÃO NARRATIVA**

Juiz de Fora

2026

MILAINÉ ELIAS DORNELAS DUQUE

**CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO IÔNICO E ESTABILIDADE PROTEICA EM
LEITES PROCESSADOS: UMA REVISÃO NARRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Nutrição do Instituto de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal de Juiz de
Fora, como requisito parcial à obtenção do
grau de bacharel em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva

Juiz de Fora

2026

MILAINÉ ELIAS DORNELAS DUQUE

**CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO IÔNICO E ESTABILIDADE PROTEICA EM
LEITES PROCESSADOS: UMA REVISÃO NARRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Nutrição do Instituto de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal de Juiz de
Fora, como requisito parcial à obtenção do
grau de bacharel em Nutrição.

Aprovada em 20 de Janeiro de 2026

BANCA EXAMINADORA

Orientador

Prof. Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Júlia D' Almeida Francisquini
UNICSUM

MSc. Isabele Torres Silva Peron
Agência de Inovação de Leite

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por iluminar meu caminho e me conceder a oportunidade de cursar Nutrição, uma profissão que eu amo e admiro. Obrigada, Senhor, por me abençoar com sabedoria e perseverança para vencer cada etapa dessa jornada, tornando possível a realização deste sonho.

Ao professor Paulo Henrique Fonseca da Silva, por todas as aulas inenarráveis que contribuíram profundamente para minha formação acadêmica. Sou grata pela oportunidade de participar do projeto de iniciação científica, experiência que ampliou meus aprendizados. Agradeço também por toda a dedicação e comprometimento que demonstra pela profissão, que servem de grande inspiração para minha vida profissional.

Ao meu noivo, Wemerson, por todo o apoio, amor, compreensão e paciência durante toda essa etapa.

A minha família, por todos os ensinamentos e pelo apoio ao longo da minha caminhada.

A todos os amigos que fizeram parte dessa jornada, tornando-a mais leve e significativa. Estendo minha gratidão a todos os professores do departamento de Nutrição da Universidade Federal de Juiz de Fora pelos ensinamentos compartilhados e pela dedicação.

RESUMO

O leite bovino é um alimento de alto valor nutricional e uma das principais fontes dietéticas de cálcio. Contudo, os tratamentos térmicos essenciais à segurança microbiológica, como a pasteurização e, notadamente, o processo Ultra-High Temperature (UHT), induzem alterações físico-químicas severas que desafiam sua estabilidade. O cálcio iônico (Ca^{2+}), fração livre e metabolicamente ativa do mineral, atua como modulador crítico da integridade das micelas de caseína. A presente revisão narrativa teve como objetivo analisar a relação entre a concentração de cálcio iônico, o processamento térmico e a estabilidade proteica de leites. A análise da literatura evidenciou que o aquecimento intenso altera drasticamente o equilíbrio salino, promovendo a insolubilização do fosfato de cálcio e a consequente redução da concentração de Ca^{2+} na fase sérica. Essa alteração, associada à desnaturação das proteínas do soro e à dissociação da κ -caseína, desestabiliza o sistema coloidal, favorecendo defeitos de armazenamento como a sedimentação e a gelificação etária — fenômenos regidos por uma complexa cinética de proteólise residual mediada pela enzima plasmina. Foram discutidos ainda métodos analíticos, como o eletrodo íon-seletivo, e tecnologias não térmicas (Campo Elétrico Pulsado e Ultrassom) como alternativas para a preservação funcional. Conclui-se que, embora a redução do cálcio iônico comprometa a estabilidade tecnológica, evidências indicam que a biodisponibilidade nutricional do mineral é mantida devido à solubilização gástrica, dissociando a instabilidade física do prejuízo nutricional.

Palavras-chave: micelas de caseína; fosfato de cálcio; proteólise; estabilidade térmica; biodisponibilidade.

ABSTRACT

Bovine milk is a food of high nutritional value and one of the main dietary sources of calcium. However, thermal treatments essential for microbiological safety, such as pasteurization and, notably, the Ultra-High Temperature (UHT) process, induce severe physicochemical changes that challenge its stability. Ionic calcium (Ca^{2+}), the free and metabolically active fraction of the mineral, acts as a critical modulator of casein micelle integrity. This narrative review aimed to analyze the relationship between ionic calcium concentration, thermal processing, and protein stability in milk. The literature analysis evidenced that intense heating drastically alters the salt balance, promoting calcium phosphate insolubilization and the consequent reduction of Ca^{2+} concentration in the serum phase. This alteration, associated with whey protein denaturation and κ -casein dissociation, destabilizes the colloidal system, favoring storage defects such as sedimentation and age gelation—phenomena governed by a complex kinetics of residual proteolysis mediated by the enzyme plasmin. Analytical methods, such as the ion-selective electrode, and non-thermal technologies (Pulsed Electric Field and Ultrasound) were also discussed as alternatives for functional preservation. It is concluded that, although the reduction of ionic calcium compromises technological stability, evidence indicates that the nutritional bioavailability of the mineral is maintained due to gastric solubilization, dissociating physical instability from nutritional impairment.

Keywords: casein micelles; calcium phosphate; proteolysis; thermal stability; bioavailability.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH)₂D – 1,25-dihidroxitamina D (forma ativa da vitamina D)
25OHD – 25-hidroxitamina D (forma circulante da vitamina D)
(Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) – Hidroxiapatita
Ca²⁺ – Cálcio iônico
Ca-Bp – Proteína ligadora de cálcio (Calcium-Binding Protein)
CaCl₂ – Cloreto de cálcio
EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético (Ethylenediaminetetraacetic Acid)
FCC – Fosfato de cálcio coloidal (Colloidal Calcium Phosphate)
GH – Hormônio do crescimento (Growth Hormone)
HCT – Tempo de coagulação ao calor (Heat Coagulation Time)
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IEX – Cromatografia de troca iônica (Ion Exchange Chromatography)
IOM – Institute of Medicine
ISA – Solução ajustadora de força iônica (Ionic Strength Adjuster)
ISE – Eletrodo íon-seletivo (Ion Selective Electrode)
Mg²⁺ – Íon magnésio
Na⁺ – Íon sódio
PEF – Campo Elétrico Pulsado (Pulsed Electric Field)
pH – Potencial hidrogeniônico
Pi – Fósforo inorgânico (Inorganic Phosphorus)
POF – Pesquisa de Orçamentos Familiares
PTH – Paratormônio (Parathyroid Hormone)
UHT – Ultra High Temperature (Ultra-alta temperatura)
US – Ultrassom de Alta Intensidade (Ultrasound)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	9
3. METODOLOGIA	10
4. COMPOSIÇÃO DO LEITE BOVINO	10
5. ABSORÇÃO E BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO	12
6. CÁLCIO IÔNICO	14
7. PROCESSAMENTO TÉRMICO DO LEITE	16
8. TÉCNICAS NÃO-TÉRMICAS E QUALIDADE DO LEITE	19
9. ESTABILIDADE PROTEICA	21
10. DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO IÔNICO NO LEITE	23
11. CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento de fundamental importância nutricional e econômica. No ano de 2022 foram produzidos 23,85 bilhões de litros de leite inspecionados no Brasil, sendo que 26,9% desse montante foi destinado ao processamento UHT, ficando atrás apenas do setor de queijos (EMBRAPA, 2023). Reconhecido como um alimento de alto valor nutricional, o leite é fonte de diversos nutrientes essenciais - como proteínas, vitaminas e minerais, destacando-se especialmente como uma das principais fontes dietéticas de cálcio (O'Neil; Nicklas; Fulgoni, 2018).

Esse mineral, presente de forma biodisponível no leite, é considerado um micronutriente essencial para o desenvolvimento e manutenção do tecido esquelético ao longo da vida, pois junto com o fosfato, pode formar a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), a principal componente dos ossos humanos (Bonjour, 2011). Além de sua função estrutural, o cálcio participa de diversos processos fisiológicos importantes, como a contração muscular, a regulação da atividade neuronal, ativação enzimática e a atuação como mensageiro celular no sistema imunológico (Silva, 2020).

As recomendações diárias de ingestão de cálcio variam de acordo com a idade e o estágio da vida. Segundo o Instituto de Medicina (IOM, 1997), a ingestão recomendada de cálcio para crianças de 4 a 8 anos é de 800 mg por dia; 1300 mg por dia para adolescentes de 9 a 18 anos; 1000 mg por dia para adultos (até 50 anos), incluindo período de gravidez e lactação e 1200 mg por dia para idosos (Luz et al. 2024).

No contexto brasileiro, estudos indicam que o consumo de cálcio é insuficiente. Segundo dados mais recentes da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2017–2018), a média diária de ingestão de cálcio na população brasileira foi inferior a 500 mg, valor abaixo das recomendações nutricionais, o que pode impactar negativamente a saúde óssea e o funcionamento de processos fisiológicos essenciais (Luz et al. 2024).

Considerando a importância do cálcio para o organismo, a forma iônica presente no leite ganha destaque, pois corresponde à fração livre e metabolicamente ativa do mineral. Essa fração exerce papel fundamental na manutenção da estrutura das micelas de caseína (as principais proteínas do leite), sendo diretamente afetada por processos térmicos como a pasteurização e o tratamento UHT. Tais processos podem alterar o equilíbrio entre as formas solúvel e coloidal do cálcio, comprometendo a estabilidade micelar e favorecendo a

ocorrência de fenômenos indesejáveis durante o armazenamento, como a sedimentação e a gelificação (Gaur; Schalk; Anema, 2018).

A sedimentação, em particular, caracteriza-se pela formação de uma camada densa e rica em proteínas no fundo da embalagem de leite UHT, fenômeno que ocorre geralmente pouco tempo após o processamento. A propensão para esse tipo de deposição está diretamente relacionada à concentração de cálcio iônico e ao pH do produto. Durante o tratamento térmico UHT, observa-se a dissociação da κ -caseína, resultando em micelas empobrecidas dessa fração e mais suscetíveis à agregação por meio de pontes cálcicas, originando aglomerados que se depositam ao longo do tempo (Anema, 2019).

Considerando que o leite é uma das principais fontes de cálcio na alimentação humana e que a ingestão desse mineral pela população brasileira está abaixo das recomendações, é fundamental compreender as formas pelas quais o processamento térmico, como a pasteurização e o tratamento UHT, afeta a concentração de cálcio iônico — a fração biodisponível e biologicamente ativa do cálcio no leite.

Portanto, torna-se relevante investigar como a concentração de cálcio iônico se altera com o processamento térmico, e compreender como essas alterações influenciam a estabilidade das proteínas do leite, afetando diretamente a qualidade final e a vida útil do produto.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Analisar, por meio de revisão bibliográfica, a relação entre a concentração de cálcio iônico e a estabilidade proteica em leites processados termicamente.

2.2. Objetivos específicos

Avaliar a influência de fatores como pH, temperatura, aditivos e composição do leite na estabilidade coloidal e na biodisponibilidade do cálcio iônico.

Demonstrar os métodos utilizados para determinar a concentração de cálcio iônico e a estabilidade proteica.

Investigar o efeito do processamento térmico na estabilidade proteica do leite e analisar a possível correlação com as alterações na concentração de cálcio iônico.

3. METODOLOGIA

O presente trabalho consiste em uma revisão narrativa não sistemática da literatura. Inicialmente, foi realizado o reconhecimento do tema e a elaboração do sumário, definindo os tópicos a serem abordados na revisão. Em seguida, foram selecionados artigos científicos consultados nos bancos de dados eletrônicos Portal de Periódicos CAPES e SciELO, com o objetivo de compor o referencial teórico. A busca foi delimitada a publicações dos últimos 10 anos, utilizando-se descritores específicos como ionic calcium, milk stability, calcium distribution in milk, protein stability, UHT milk, entre outros termos correlatos. A escolha dos artigos baseou-se na leitura crítica completa dos textos, nos idiomas português e inglês, buscando-se extrair as informações mais relevantes.

4. COMPOSIÇÃO DO LEITE BOVINO

Água, gordura, lactose, proteínas e minerais, especialmente cálcio, são os principais componentes do leite bovino. No entanto, a composição do leite varia de acordo com a individualidade, raça do animal, alimentação, estágio de lactação, idade, temperatura ambiental, estação do ano e vários fatores fisiológicos (gestação), patológicos (mastite) e intervalo entre ordenhas (Walstra; M Wouters; Geurts, 2006).

Em termos médios, o leite é composto por cerca de 87% de água, sendo o restante constituído por sólidos, entre os quais destacam-se carboidratos, lipídios, proteínas e minerais. A lactose é o principal carboidrato, representando aproximadamente 4,6% da composição, enquanto os lipídios variam em torno de 4%. Entre as proteínas, as caseínas correspondem cerca de 2,6%. Já os sais minerais, como o cálcio, fósforo, magnésio e potássio, representam cerca de 0,7% do conteúdo total, e os ácidos orgânicos e outros compostos menores (como enzimas e vitaminas) compõem frações residuais (Ordoñez et al., 2005).

Os principais sais minerais presentes no leite bovino se distribuem em duas fases: 1) Fase livre ou solúvel: Íons livres ou complexados em solução, ou associados a proteínas, peptídeos e fosfolipídios. 2) Fase ligada às micelas ou coloidal: sais não dissolvidos, principalmente cálcio e fósforo, que são os fosfatos de cálcio coloidais (FCC) (Nieuwenhuijse; Huppertz, 2022; Farage, 2023).

A fração proteica do leite bovino corresponde a aproximadamente 3,5% do conteúdo total do leite em massa. Cerca de 95% do nitrogênio total é proveniente de caseínas e

proteínas do soro, e os 5% restantes são compostos nitrogenados não protéicos, como ureia, amônia, ácido úrico, creatinina, peptídeos e aminoácidos (Walstra; M Wouters; Geurts, 2006).

As proteínas do leite são divididas em:

- **Caseínas:** Representam cerca de 80% do total de proteínas do leite, sendo representadas principalmente pelas frações α S1, α S2, β e κ -caseína. Essas moléculas apresentam diferenças na composição de aminoácidos e podem sofrer diversas modificações pós-traducionais, entre as quais se destacam a fosforilação e a glicosilação. A presença de resíduos fosforilados, em especial, confere elevada afinidade por cátions bivalentes, como cálcio e magnésio, o que é fundamental para a formação e estabilidade das micelas de caseína. Já as κ -caseínas se destacam por seu caráter anfifílico: possuem uma extremidade N-terminal hidrofóbica e outra C-terminal hidrofílica, que pode conter resíduos fosforilados e/ou glicosilados, característica que contribui para a organização e estabilidade estrutural do sistema coloidal do leite (Fox; Mcsweeney, 1998; Swaisgood, 2003).
- **Proteínas do soro:** Correspondem aos 20% restante das proteínas totais e se caracterizam por serem globulares, apresentarem estrutura terciária bem definida e elevada sensibilidade ao calor, sofrendo desnaturação a temperaturas superiores a 65 °C. Diferentemente das caseínas, não possuem grupos fosforilados. Os principais representantes são a β -lactoglobulina, a α -lactoalbumina, as imunoglobulinas e a lactoferrina (Fox; Mcsweeney, 1998). Dentre elas, destaca-se a α -lactoalbumina, que possui um sítio de ligação específico capaz de interagir com íons cálcio em sua estrutura intramolecular, desempenhando papel importante em processos bioquímicos associados ao metabolismo mineral e à funcionalidade do leite (Hendrix et al., 2000).

Embora a composição básica do leite bovino seja relativamente estável, pequenas variações em proteínas e minerais podem ter impacto na estabilidade coloidal. Alterações no teor de caseína, por exemplo, modificam a densidade e a integridade das micelas, enquanto variações na relação cálcio/fósforo afetam a quantidade de cálcio iônico livre no soro. Assim, compreender a composição não deve ser visto apenas sob o aspecto nutricional, mas também como ponto de partida para explicar diferenças de comportamento físico-químico entre amostras submetidas ao mesmo processamento (Gaucheron, 2005).

5. ABSORÇÃO E BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO

A absorção do cálcio ocorre principalmente no intestino delgado e se dá por duas vias distintas. A via ativa, de caráter saturável, é mediada pela vitamina D e envolve proteínas ligadoras de cálcio (Ca-Bp) (Wilkinson, 1976). Nessa via, o duodeno apresenta a maior capacidade absorptiva por unidade de comprimento, enquanto o jejuno, devido à sua extensão, responde pela maior parte da absorção (Birge et al., 1969; Wensel et al., 1969). Já a via passiva, não saturável, ocorre por difusão simples ou facilitada ao longo de todo o intestino, predominando no íleo. Nesse caso, o aumento da ingestão dietética de cálcio eleva a absorção por difusão; entretanto, como a via ativa é saturável, a fração absorvida tende a diminuir proporcionalmente à medida que a ingestão do mineral aumenta (Wilkinson, 1976; Heaney, Weaver, 1989).

A absorção ativa de cálcio no intestino é regulada principalmente pela forma ativa da vitamina D, a 1,25-dihidroxitamina D [1,25(OH)₂D]. No entanto, outros hormônios também exercem influência nesse processo: alguns, como o paratormônio (PTH) e o hormônio do crescimento (GH), podem potencializar a absorção, enquanto outros, como os glicocorticóides, o excesso de hormônios tireoidianos e possivelmente a calcitonina, tendem a reduzi-la. Esses efeitos ocorrem por meio da modulação da conversão renal de 25-hidroxitamina D (25OHD) em 1,25(OH)₂D, pela ação direta da 1,25(OH)₂D sobre o intestino ou ainda por mecanismos hormonais diretos (Charles, 1992; Guyton; Hall, 2002).

Além dos fatores fisiológicos que regulam a absorção intestinal, a quantidade de cálcio efetivamente disponível para o organismo também depende de sua biodisponibilidade nos alimentos consumidos. Segundo Guéguen e Pointillart (2000, p. 120), esse conceito refere-se à fração do mineral que, após a digestão, pode ser absorvida e utilizada pelo organismo em suas funções fisiológicas.

A biodisponibilidade de cálcio é influenciada por diversos fatores, que podem ser classificados em dois grupos: aqueles relacionados ao próprio organismo, de natureza endógena, e aqueles dependentes das características dos alimentos ou da dieta, de natureza exógena (Wawrzyniak; Suliburska, 2021).

Os fatores endógenos que influenciam a absorção de cálcio estão diretamente relacionados às condições fisiológicas e ao estado de saúde de cada indivíduo. Durante o crescimento, na gestação e na lactação, a absorção tende a ser maior, podendo, por exemplo, aumentar de 27% para 54% a partir do segundo trimestre da gravidez. Esse processo também

é favorecido em situações de deficiência de cálcio ou fósforo. Por outro lado, no envelhecimento observa-se uma redução na capacidade absorptiva. Outro ponto importante é o status de vitamina D, considerado um dos principais determinantes da biodisponibilidade do cálcio. A forma ativa dessa vitamina, a 1,25-dihidroxitamina D [1,25(OH)₂D], é essencial para a absorção intestinal do mineral, de modo que sua deficiência compromete a expressão das proteínas transportadoras de cálcio, reduzindo a via ativa de absorção e, conseqüentemente, a quantidade de cálcio disponível para as funções metabólicas. Além disso, há a influência hormonal: hormônios como o paratormônio (PTH) e o hormônio do crescimento (GH) tendem a aumentar a absorção, enquanto os glicocorticóides, o excesso de hormônios tireoidianos e possivelmente a calcitonina exercem efeito contrário. Nas mulheres, a queda dos níveis de estrogênio após a menopausa também interfere negativamente, já que reduz a produção renal de 1,25(OH)₂D e, assim, contribui para uma menor absorção de cálcio (Buzinaro; Almeida; Mazeto, 2006).

Os fatores extrínsecos que influenciam a absorção de cálcio estão relacionados à composição dos alimentos consumidos na dieta. Substâncias como fitatos, presentes em cereais, feijões e leguminosas, oxalatos, encontrados em vegetais folhosos, ácidos graxos saturados de cadeia longa e fibras alimentares podem diminuir a biodisponibilidade do cálcio, pois têm a capacidade de formar complexos insolúveis com esse mineral, dificultando sua absorção pelo organismo (Fairweather-Tait et al., 1989; Singh et al., 2006).

Para quantificar a fração de cálcio potencialmente absorvível de diferentes matrizes alimentares, a pesquisa contemporânea utiliza modelos de digestão *in vitro* que simulam as condições fisiológicas do trato gastrointestinal humano. Esses modelos, como o protocolo padronizado INFOGEST, mimetizam as fases oral, gástrica e intestinal da digestão através do controle rigoroso do pH e da adição sequencial de enzimas digestivas, como pepsina e pancreatina, além de sais biliares (Rinaldi et al., 2014). Ao final do processo simulado, a fração bioacessível do cálcio é determinada. Esta corresponde à quantidade do mineral que se encontra solubilizada no digesto intestinal e que, teoricamente, estaria disponível para ser absorvida através da mucosa (Wooster; Gee, 2008). Uma técnica comum para medir essa fração é a diálise de equilíbrio, na qual o digesto é colocado em contato com uma membrana semipermeável. A quantidade de cálcio que atravessa a membrana (o "dialisado") representa a porção de baixo peso molecular e solúvel do mineral, fornecendo uma medida quantitativa da sua bioacessibilidade, também conhecida como "dialisabilidade" do cálcio (Wooster; Gee, 2008).

O leite e seus derivados se destacam como alimentos de alta biodisponibilidade de cálcio, sendo considerados fontes importantes desse mineral na dieta. Isso se deve à presença de componentes que favorecem a absorção, como proteínas e minerais em proporções equilibradas. Além disso, a maior parte do cálcio no leite é coloidal como complexo caseinato fosfato e é prontamente liberado durante a digestão; portanto, sua biodisponibilidade potencial é alta (Guéguen; Pointillart, 2000).

Estudos com modelos de digestão *in vitro* mostram que o efeito do processamento térmico sobre a bioacessibilidade do cálcio é mais complexo do que se pensava, pois está diretamente relacionado às mudanças na digestão das proteínas. Tratamentos mais intensos, como o UHT, realmente provocam alterações marcantes nas proteínas do leite — como a desnaturação das proteínas do soro e sua ligação às micelas de caseína —, mas isso não implica necessariamente em menor aproveitamento do cálcio. Pelo contrário, há evidências de que a digestão gástrica das caseínas pode ocorrer de forma mais rápida em leites esterilizados do que em pasteurizados (Rinaldi et al., 2014). A explicação proposta é que o aquecimento intenso modifica a estrutura do coágulo formado no estômago, tornando-o mais acessível à ação da pepsina. Como o cálcio do leite está em grande parte associado ao fosfato de cálcio coloidal dentro das micelas de caseína, uma desestruturação mais rápida dessa matriz durante a digestão favoreceria a liberação e a solubilização precoce do mineral, aumentando sua bioacessibilidade (Rinaldi et al., 2014). Assim, em vez de se limitar à ideia de “dano térmico”, a literatura aponta para uma análise mais ampla, em que a cinética de liberação dos nutrientes pode ser tão relevante quanto a quantidade total liberada.

Em síntese, o leite pode ser considerado uma das fontes mais relevantes de cálcio na alimentação humana, tanto pela sua concentração como pela boa biodisponibilidade. Entretanto, os estudos disponíveis enfatizam que essa característica não deve ser entendida de forma absoluta, já que a eficiência de absorção pode variar entre indivíduos e contextos dietéticos. Assim, embora o leite seja amplamente reconhecido como referência em termos de aporte de cálcio, sua contribuição efetiva depende da interação entre alimento e organismo.

6. CÁLCIO IÔNICO

O cálcio no leite bovino se apresenta sob diferentes fases: a fase coloidal e a fase sérica (Gaucheron, 2005). A fase coloidal representa aproximadamente dois terços do cálcio total no leite bovino (Smeets, 1955). Nessa fase, ele se associa principalmente com o fosfato, e forma o chamado fosfato de cálcio coloidal. Esse composto exerce um papel crucial na

estrutura e na estabilidade das micelas de caseína, uma vez que atua como “blocos de construção”, reorganizando as caseínas em uma estrutura supramolecular denominada micela de caseína (Holt, 1997; De Kruif et al., 2012).

Uma parte do cálcio coloidal está diretamente ligada às caseínas, formando o caseinato de cálcio, por meio do fosfato orgânico presente nos resíduos de fosfoserina. Outra parte do cálcio encontra-se na forma de fosfato de cálcio inorgânico (Gaucheron, 2005). Esses pequenos agrupamentos de fosfato de cálcio inorgânico, chamados nanoclusters, estabelecem ligações entre as caseínas por meio de pontes salinas de cálcio, que são fundamentais para a estrutura e a estabilidade da micela (Wang; Ma, 2020).

Por outro lado, a fase sérica representa menos de 10% do cálcio total no leite (Lin; Lewis; Grandison, 2006). Nessa fase, o cálcio pode se apresentar tanto na forma complexada, quando está quimicamente ligado a outros componentes, quanto na forma livre, conhecida como forma iônica (Ca^{2+}). Entre os complexos formados, o cálcio associa-se principalmente ao citrato, em concentração aproximada de 8,2 mM, seguido pelo fosfato inorgânico e pelo cloreto (Gaucheron, 2005; Koutina et al., 2014; Barone et al. 2021).

O baixo teor de cálcio na fase sérica, em comparação com a fase coloidal do leite bovino, deve-se à baixa solubilidade desses sais, especialmente do fosfato de cálcio, que apresenta solubilidade inversa, ou seja, é mais solúvel em temperaturas baixas. Assim, com o aumento da temperatura, é comum observar a precipitação de cálcio durante processos de aquecimento típicos (Kezia et al., 2017; Barone et al. 2021).

A distribuição do cálcio entre as fases coloidal e sérica é dinâmica e sensível a diversos fatores, como variações de pH, tratamentos térmicos (aquecimento/resfriamento) e adição de sais (Gaucheron, 2005).

De maneira geral, sabe-se que o resfriamento aumenta a solubilidade do fosfato de cálcio, elevando assim o teor total de cálcio na fase sérica. Por outro lado, o aquecimento a temperaturas iguais ou superiores a 60°C provoca um aumento do cálcio na fase coloidal e, consequentemente, uma redução na fase sérica, além de provocar diminuição do pH do leite devido à liberação de íons hidrogênio do fosfato (Anema, 2009; Schmitt et al., 1993; Wang; Ma, 2020). A acidificação do leite também promove a solubilização do fosfato de cálcio, resultando em aumento significativo do cálcio na fase sérica, principalmente na forma iônica (Salaün et al., 2005; Barone et al. 2021). No entanto, a cinética dessa acidificação em diferentes temperaturas ainda é pouco investigada.

A sensibilidade do equilíbrio de cálcio a fatores como temperatura e pH torna esse parâmetro especialmente relevante para a indústria de laticínios. O processamento térmico, ao

modificar de forma significativa essa relação, altera a estrutura físico-química do leite e, consequentemente, sua estabilidade. Nesse contexto, monitorar a concentração de Ca^{2+} configura-se como uma ferramenta estratégica para prever e controlar a qualidade do produto final (Anema, 2009).

A relevância do cálcio iônico no leite vai além da caracterização físico-química, pois conecta diretamente aspectos nutricionais e tecnológicos. Do ponto de vista nutricional, sua presença na fase solúvel está diretamente relacionada à biodisponibilidade do mineral, já que é essa fração que pode ser absorvida no trato gastrointestinal (Cashman, 2002). Em termos tecnológicos, o cálcio iônico é essencial para a estabilidade das micelas de caseína, influenciando a resistência do sistema às variações de pH, ao aquecimento e à adição de sais (Udabage et al., 2000; Huppertz, 2016). A dinâmica de distribuição do cálcio iônico, especialmente sua sensibilidade ao calor, posiciona-o como um eixo central que conecta o processamento térmico, a estabilidade proteica e a biodisponibilidade. A redução na concentração de Ca^{2+} livre no soro, resultante da precipitação induzida pelo aquecimento (Anema, 2009), tem impactos duplos: tecnologicamente, desequilibra o sistema coloidal, tornando as micelas de caseína — já empobrecidas de κ -caseína — mais propensas a formar agregados por meio de pontes cálcicas residuais, o que favorece instabilidades como a sedimentação durante o armazenamento do leite UHT (Gaur; Schalk; Anema, 2018; Lewis, 2011); nutricionalmente, levanta a questão sobre se a redução do cálcio iônico livre poderia afetar a biodisponibilidade do mineral. Embora a fração coloidal seja amplamente liberada durante a digestão (Guéguen; Pointillart, 2000), alterações na estrutura do fosfato de cálcio e nas interações com proteínas desnaturadas pelo calor podem modificar, em teoria, a cinética de liberação. Dessa forma, o estudo do cálcio iônico se apresenta não apenas como um parâmetro de qualidade tecnológica, mas também como um potencial indicador de funcionalidade nutricional em leites processados.

7. PROCESSAMENTO TÉRMICO DO LEITE

O leite é frequentemente submetido a tratamentos térmicos como a pasteurização e, principalmente, o tratamento UHT. O processamento UHT consiste no aquecimento do leite a temperaturas entre 130°C e 150°C por 2 a 4 segundos, seguido de resfriamento rápido e envase asséptico (BRASIL, 1997).

Esse aquecimento durante o processamento térmico induz alterações significativas no leite, destacando-se a desnaturação das proteínas do soro do leite, como a α -lactalbumina e a

β -lactoglobulina, que começam a desnaturar acima de 70°C. Este processo envolve o desdobramento de suas estruturas globulares, expondo grupos sulfidríla reativos. Estes grupos podem formar ligações dissulfeto, levando à agregação das próprias proteínas do soro ou à sua associação com a κ -caseína na superfície da micela (Anema, 2014).

Em contraste com as proteínas do soro, as caseínas são relativamente estáveis ao calor e são menos afetadas por temperaturas comuns aplicadas em laticínios (Oever; Mayer, 2021). Contudo, o tratamento térmico acarreta dissociação significativa de κ -caseína das micelas. A remoção dessa estrutura estabilizadora (filamentos protuberantes de κ -caseína) resulta em um arranjo micelar com estabilidade coloidal muito reduzida (Anema, 2019).

O aquecimento também causa uma considerável redução do pH do leite, que pode ser atribuída à degradação da lactose em ácidos orgânicos, à desfosforilação da caseína e à precipitação do fosfato de cálcio com liberação de íons H^+ (Huppertz, 2016).

Adicionalmente, o aumento da temperatura provoca a precipitação parcial do fosfato de cálcio, reduzindo sua solubilidade e, conseqüentemente, diminuindo os níveis de cálcio iônico (Ca^{2+}) e fósforo inorgânico (Pi) na fase solúvel (Nieuwenhuijse; Huppertz, 2022).

Outras alterações que podem ocorrer incluem escurecimento, formação de compostos sulfidríla (em grande parte por degradação de β -lactoglobulina e material da membrana dos glóbulos de gordura do leite), produção de compostos carbonílicos, redução dos níveis de vitaminas, sabor de cozido mais intenso e separação de gordura (Farage, 2023; Deeth; Lewis, 2017).

Essas alterações decorrentes do tratamento térmico têm impacto direto sobre a estabilidade coloidal do leite. Quando intensas, podem comprometer a qualidade do produto e reduzir sua vida útil (Anema, 2019). As principais instabilidades que determinam o fim da vida de prateleira do leite UHT, a gelificação e a sedimentação, não devem ser entendidas como fenômenos independentes, mas sim como manifestações distintas de um mesmo processo subjacente: a proteólise residual mediada pela enzima nativa do leite, a plasmina. Estudos recentes demonstram que a cinética dessa atividade enzimática, modulada principalmente pela temperatura de armazenamento, é o fator determinante para definir se o produto evoluirá para a formação de um gel ou de um sedimento (Li et al., 2024). O sistema plasmina — composto pela própria enzima, seu precursor (plasminogênio) e seus ativadores — apresenta elevada termoestabilidade, o que permite que uma fração resista ao tratamento UHT. Durante o armazenamento, o plasminogênio residual pode ser convertido gradualmente em plasmina ativa, que hidrolisa as caseínas e enfraquece a estrutura micelar. O desfecho

desse processo dependerá, sobretudo, da velocidade em que ocorre, explicando a variabilidade observada entre gelificação e sedimentação em leites submetidos ao mesmo processamento.

Nesse contexto, a gelificação caracteriza-se pela formação de uma rede protéica tridimensional que aumenta a viscosidade do produto. Esse gel, geralmente de baixa resistência, inicia-se na parte inferior da embalagem e se espalha gradualmente por todo o leite, sendo um fenômeno irreversível que determina o fim da vida útil do produto (Deeth; Lewis, 2017). A gelificação pode ser desencadeada pela ação de proteases resistentes ao calor, como a plasmina, que não são totalmente inativadas durante o processamento. Em temperaturas de armazenamento amenas (por exemplo, 25°C), a atividade proteolítica é moderada e ocorre lentamente, permitindo que micelas de caseína parcialmente hidrolisadas e fragmentos peptídicos se reorganizem e interajam por meio de pontes de dissulfeto e interações hidrofóbicas, formando gradualmente a rede proteica (Anema, 2019; Li et al., 2024). Uma hidrólise excessiva, entretanto, pode impedir a formação adequada do gel. Além disso, alterações físico-químicas também podem contribuir para esse fenômeno (Anema, 2019).

Na sedimentação, em temperaturas de armazenamento mais elevadas (por exemplo, 37°C), próximas à temperatura ótima da plasmina, a atividade enzimática é exacerbada. A proteólise torna-se rápida e extensa, degradando as proteínas a um ponto em que elas perdem a capacidade de formar uma rede coesa. As micelas desestabilizadas e os agregados proteicos simplesmente agregam e precipitam pela ação da gravidade, formando uma camada densa no fundo da embalagem (Li et al., 2024). Portanto, a sedimentação pode ser entendida como o resultado de uma alteração no processo de gelificação devido à proteólise excessiva.

A separação de gordura ocorre quando se forma uma camada rica em lipídios na parte superior da embalagem. Esse acúmulo está geralmente associado a uma homogeneização ineficiente ou à floculação dos glóbulos de gordura, que acabam se unindo e originando partículas maiores. A taxa com que essa separação acontece depende principalmente do tamanho dos glóbulos e da diferença de densidade entre eles e a fase contínua, processo explicado pela lei de Stokes (Anema, 2019). Para evitar esse fenômeno, a homogeneização tem papel essencial, pois seu objetivo é reduzir o diâmetro das partículas de gordura, diminuindo assim a velocidade da separação. Esse processo é realizado em temperaturas mais altas, quando a gordura do leite se encontra no estado líquido, e geralmente utiliza dois estágios de pressão combinada (Deeth; Lewis, 2017). No primeiro estágio da homogeneização, o objetivo principal é romper os glóbulos de gordura originais, reduzindo seu tamanho. Entretanto, pode acontecer de alguns desses glóbulos homogeneizados se

agregarem às micelas de caseína por meio de interações não covalentes. Como esses agregados acabam ficando grandes, eles tendem a subir rapidamente. Por isso, o segundo estágio da homogeneização é aplicado justamente para quebrar esses agregados que se formam após a primeira etapa (Anema, 2019).

De forma geral, os efeitos do processamento térmico vão além da segurança microbiológica, repercutindo diretamente nas interações minerais e proteicas do leite. Essas alterações, quando não controladas, podem comprometer a estabilidade coloidal e favorecer fenômenos indesejados durante o armazenamento, como sedimentação e gelificação. Assim, compreender a relação entre intensidade térmica e estabilidade não é apenas um aspecto teórico, mas uma condição essencial para garantir a qualidade físico-química do produto final (Huppertz, 2016).

8. TÉCNICAS NÃO-TÉRMICAS E QUALIDADE DO LEITE

Embora o tratamento térmico continue sendo o padrão da indústria para garantir a segurança microbiológica do leite, a busca por métodos que preservem melhor as características nutricionais e sensoriais do produto fresco impulsionou o desenvolvimento de tecnologias de processamento não térmicas. Duas das mais promissoras são o Campo Elétrico Pulsado (PEF) e o Ultrassom de Alta Intensidade (US), que representam uma mudança de paradigma: do "processamento para preservação" para o "processamento para modificação funcional".

A tecnologia do Campo Elétrico Pulsado (PEF) submete o leite a pulsos elétricos de alta voltagem e curta duração (microsegundos) entre dois eletrodos. O principal mecanismo de inativação microbiana é a eletroporação, um fenômeno que desestabiliza e permeabiliza a membrana celular dos microrganismos, levando à sua morte sem gerar calor significativo (Nabila et al., 2023; Sharma et al., 2023). Como resultado, o PEF preserva eficazmente vitaminas termolábeis e compostos de sabor, resultando em um produto com qualidades sensoriais muito próximas às do leite cru (Sharma et al., 2023). Mais do que um método de pasteurização "a frio", o PEF demonstrou ser uma ferramenta para a engenharia de proteínas. Estudos mostram que o tratamento com PEF pode alterar a estrutura secundária das micelas de caseína, diminuindo o conteúdo de α -hélice e aumentando o de β -folha, além de modificar seu tamanho e carga de superfície (potencial zeta) (Mohammed et al., 2023). Essas alterações estruturais controladas podem ser exploradas para modular as propriedades tecno-funcionais

do leite, como viscosidade, solubilidade e capacidade de gelificação, transformando o processamento em uma etapa de design de ingredientes.

O Ultrassom de Alta Intensidade (US) utiliza ondas sonoras de alta frequência (> 20 kHz) para gerar um fenômeno chamado cavitação acústica. A formação e a implosão violenta de microbolhas no leite criam pontos localizados de extrema pressão e temperatura, além de intensas forças de cisalhamento, que são letais para os microrganismos (Singh; Wani, 2022). O US pode ser aplicado sozinho ou em combinação com calor moderado (termossonicação) para aumentar sua eficácia. Similarmente ao PEF, o US também modifica a estrutura dos componentes do leite. As forças de cavitação podem reduzir o tamanho das micelas de caseína e dos glóbulos de gordura, melhorando a estabilidade física do produto. Adicionalmente, o US pode alterar a conformação das proteínas, expondo regiões hidrofóbicas e modificando suas propriedades interfaciais, o que pode ser utilizado para aprimorar a capacidade de emulsificação ou de formação de espuma (Singh; Wani, 2022).

A existência dessas tecnologias desafia a visão tradicional do processamento como uma etapa inevitavelmente degradativa. Em vez disso, elas oferecem a possibilidade de um controle preciso sobre as estruturas moleculares do leite, permitindo não apenas a sua preservação, mas também a otimização de suas propriedades para aplicações específicas, abrindo novas fronteiras para a inovação em produtos lácteos.

Apesar do crescente interesse por tecnologias não térmicas de processamento do leite, como o Campo Elétrico Pulsado e o Ultrassom de Alta Intensidade, é fundamental destacar que essas inovações não substituem, no cenário atual, o tratamento UHT. O processamento UHT permanece como a principal tecnologia adotada pela indústria láctea devido à sua elevada viabilidade em larga escala, eficiência comprovada na garantia da segurança microbiológica, ampla aceitação regulatória e custo operacional mais acessível quando comparado às tecnologias inovadoras.

Embora essas tecnologias alternativas apresentem potencial relevante, especialmente pela maior preservação das características sensoriais e nutricionais do leite, sua aplicação industrial ainda enfrenta limitações significativas. Entre elas destacam-se o alto custo de implantação e manutenção, os desafios de padronização do processo em grandes volumes e as restrições regulatórias.

Dessa forma, as tecnologias não térmicas devem ser compreendidas, no contexto atual, como estratégias complementares ao processamento térmico tradicional, com potencial de aplicação futura ou direcionadas a nichos específicos de mercado, e não como substitutas imediatas do tratamento UHT. A consolidação dessas inovações depende do avanço de

estudos que avaliem sua viabilidade econômica, eficiência tecnológica e impacto nutricional em escala industrial.

9. ESTABILIDADE PROTEICA

A estabilidade proteica do leite está intimamente associada aos equilíbrios físico-químicos que ocorrem entre seus constituintes. Entre os fatores que contribuem para a manutenção da estabilidade coloidal do leite, destacam-se a solubilidade e a ionização dos sais, sua interação com as proteínas, bem como a associação entre as frações proteicas. Alterações nesses equilíbrios, especialmente induzidas por tratamentos térmicos, podem comprometer a estabilidade do leite (Huppertz, 2016).

Entre os fatores que afetam diretamente esta estabilidade, destacam-se o pH, a concentração de cálcio iônico, a concentração e distribuição de sais minerais, a adição de sais e estabilizantes e o processamento térmico, como dito anteriormente. Para melhor compreensão, os fatores que impactam a estabilidade serão abordados de maneira específica a seguir.

A redução do pH (acidificação) promove a protonação dos grupos carboxilatos dos resíduos de aminoácidos, levando ao colapso da estrutura estabilizadora da κ -caseína e, consequentemente, à perda da estabilidade do sistema coloidal (Huppertz, 2016). Além disso, há uma inter-relação entre o pH do leite e a concentração de cálcio iônico, afetando diretamente a estabilidade proteica do leite. Segundo Lewis (2011), níveis mais baixos de pH e/ou maiores concentrações de cálcio iônico aumentam a formação de sedimentos, podendo transformar um leite estável em um leite instável.

Ainda em relação a influência das concentrações de cálcio iônico na estabilidade proteica do leite, um ligeiro aumento na concentração de cálcio iônico no leite pode torná-lo menos estável ao etanol, pois o etanol induz o colapso da κ -caseína e reduz a repulsão estérica entre as micelas, levando à precipitação isoeletrica. De forma geral, o etanol induz um processo semelhante à precipitação isoeletrica (Horne, 2016).

Outro fator que interfere na estabilidade coloidal do sistema é a concentração e distribuição dos sais minerais (Gaucheron, 2005). Pequenas mudanças no equilíbrio do cálcio (solúvel) e do fosfato de cálcio coloidal podem causar alterações nas propriedades físico-químicas do leite (Christiansen et al., 2020; Lewis, 2011).

No que se refere a adição de sais estabilizantes, como citratos e fosfatos, esses compostos contribuem para a melhora da estabilidade térmica do leite ao reduzirem a concentração de cálcio iônico (Ca^{2+}) na fase solúvel. Essa redução diminui a agregação proteica induzida pelo cálcio, o que resulta em maior estabilidade térmica e prolonga a vida útil do leite (conforme demonstrado por diversos autores, como Udabage et al., 2000; Gaucheron, 2005; Garcia et al., 2023).

Para assegurar a qualidade do leite e prever possíveis alterações durante o processamento e armazenamento, diversos métodos têm sido desenvolvidos e aplicados para avaliar sua estabilidade proteica ao calor.

O método mais comum para avaliar a estabilidade do leite frente ao calor consiste em determinar o tempo necessário para a coagulação da amostra quando submetida a uma temperatura específica (HCT). Semelhante ao que ocorre na sedimentação, fatores como o pH e a concentração de cálcio iônico têm grande impacto na estabilidade térmica das micelas de caseína (Huppertz, 2016). O HCT tende a aumentar à medida que o pH do leite sobe, alcançando seu valor máximo próximo ao pH natural do leite, entre 6,6 e 6,7. No entanto, quando o pH varia entre 6,7 e 7,0, os valores de HCT apresentam redução (Huppertz, 2016). Em estudo com leite termicamente tratado, Sievanen et al. (2008) observaram que a adição de CaCl_2 elevou o HCT na faixa de pH entre 6,4 e 6,8, enquanto houve redução quando o pH estava entre 6,8 e 7,2.

A estabilidade ao etanol é outro método bastante empregado no Brasil, conhecido por ser simples, rápido e de baixo custo. A estabilidade do leite ao etanol é determinada pela menor concentração de solução alcoólica capaz de provocar a coagulação quando adicionada em volume equivalente ao da amostra (Farage, 2023; Horne, 2016). De acordo com Brasil (1997), o leite UHT deve apresentar estabilidade ao etanol a 68% após incubação a 35–37 °C por sete dias.

O potencial zeta é utilizado para avaliar a estabilidade do leite por meio da determinação da carga elétrica líquida do sistema (Cano-Sarmiento et al., 2018). Os principais responsáveis por essa carga são as micelas de caseína e a membrana dos glóbulos de gordura (Gaucher et al., 2008). Em condições de pH natural do leite, os leites desnatado e integral apresentam potenciais zeta de aproximadamente -18 mV e -22 mV, respectivamente. Fatores como pH, tratamento térmico, concentração de cálcio iônico e homogeneização podem influenciar essa carga elétrica e, conseqüentemente, a estabilidade do leite (Cano-Sarmiento et al., 2018).

A forte influência do pH e do cálcio iônico na estabilidade proteica explica por que a adição de sais quelantes, como citratos, é uma prática tão difundida na indústria, uma vez que atua diretamente na redução da fração iônica do cálcio responsável pela agregação (Udabage et al., 2000). Essa intervenção ilustra como estratégias tecnológicas se apoiam no entendimento das bases físico-químicas do sistema lácteo para prevenir a perda de estabilidade. De fato, a estabilidade proteica resulta de um equilíbrio delicado entre forças atrativas e repulsivas, sendo modulada por variáveis como pH, concentração de Ca^{2+} e intensidade do tratamento térmico. Pequenas alterações nesses fatores podem desencadear fenômenos indesejados, como sedimentação e gelificação, comprometendo a aceitação sensorial do produto.

Nesse contexto, os testes de estabilidade aplicados em pesquisas e na indústria — como a prova do etanol e o tempo de coagulação ao calor — são ferramentas valiosas, mas não devem ser interpretados de forma isolada. Quando utilizados em conjunto, permitem uma avaliação mais abrangente do comportamento proteico do leite e contribuem para o desenvolvimento de soluções tecnológicas que assegurem qualidade físico-química e maior estabilidade durante o armazenamento (Nieuwenhuijse; Huppertz, 2022).

10. DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO IÔNICO NO LEITE

Considerando que o cálcio iônico desempenha um papel central na estabilidade das proteínas do leite, sua quantificação precisa é fundamental em estudos de processamento e qualidade do leite. Para isso, diferentes técnicas têm sido desenvolvidas e aplicadas, destacando-se entre elas o uso de eletrodos íon-seletivos, a cromatografia de troca iônica e os métodos de titulação complexométrica. A técnica com eletrodo íon-seletivo para cálcio (ISE) baseia-se na potenciometria e permite a medição direta da concentração de Ca^{2+} em soluções líquidas (Masotti et al., 2020). O sinal gerado, expresso em milivolts, é proporcional à atividade do íon na amostra, de acordo com a equação de Nernst. A precisão do método depende da calibração dos eletrodos com soluções padrão que apresentem propriedades físico-químicas semelhantes às do leite, como força iônica, pH e concentração (Barone et al. 2021).

Entre os métodos disponíveis para a determinação de cálcio em lácteos, o eletrodo íon-seletivo (ISE) é a técnica mais utilizada para a quantificação do cálcio iônico. Sua principal vantagem é a rapidez e a capacidade de medir diretamente a atividade de Ca^{2+} no meio líquido, sem necessidade de separação prévia das frações protéicas ou minerais.

Entretanto, trata-se de uma medida indireta de concentração, dependente de fatores como força iônica da amostra e pH, o que exige o uso de soluções ajustadoras de força iônica (ISA) e calibrações rigorosas para assegurar a reprodutibilidade (Masotti et al., 2020).

A cromatografia de troca iônica (IEX) permite quantificar a concentração de cálcio iônico em leite bovino ou outros materiais lácteos líquidos. Essa abordagem fundamenta-se na interação reversível entre os íons de cálcio e grupos funcionais presentes em resinas catiônicas. Durante a análise, a amostra é equilibrada com a resina, promovendo a ligação dos íons Ca^{2+} , que são posteriormente eluídos com o uso de ácidos. A concentração final é então determinada por titulação ou por medição de condutividade (Asada et al., 2017). Entre as vantagens dessa abordagem estão a elevada precisão, a capacidade de diferenciar cálcio livre, quelado e coloidal, além da possibilidade de analisar simultaneamente outros cátions presentes no leite. No entanto, as desvantagens incluem a complexidade do preparo da amostra e a necessidade de equipamentos cromatográficos especializados (Rahimi-Yazdi; Ferrer; Corredig, 2010).

Por fim, os métodos de titulação complexométrica vêm sendo utilizados há mais de um século para a quantificação do teor total de cálcio em leite e derivados (Barthel, 1910). Esses métodos utilizam o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como agente quelante, sendo frequentemente associados a indicadores específicos para facilitar a visualização do ponto final da reação. Entre os indicadores mais empregados estão a murexida (sal de ácido purpúrico), o azul de eriocromo S (solocromo) e o indicador de Patton-Reeder, conhecido quimicamente como ácido 2-hidroxi-1-(2-hidroxi-4-sulfo-1-naftilazo)-3-naftóico (Kindstedt & Kosikowski, 1985; Tessier & Rose, 1958). Apesar de sua ampla difusão, esse método apresenta vantagens e limitações que precisam ser consideradas. Entre os principais pontos positivos destacam-se a simplicidade, a rapidez e a elevada precisão na medição de cálcio, mesmo na presença de proteínas e fosfatos, que não afetam significativamente a análise. Por outro lado, algumas desvantagens incluem a necessidade de rigoroso controle do pH para a definição adequada do ponto final, além da possibilidade de pequenas divergências em relação a métodos clássicos devido à retenção parcial de íons pelos precipitados proteicos (Ntalianas & Whitney, 1963).

A variedade de métodos utilizados para determinar o cálcio em leite evidencia que cada técnica possui vantagens e limitações próprias. O uso de eletrodo íon seletivo (ISE) destaca-se pela rapidez e praticidade, sendo útil em análises de rotina, embora sua precisão dependa da calibração adequada e de condições experimentais bem controladas (Masotti et al., 2020). Já a cromatografia de troca iônica apresenta maior sensibilidade e especificidade,

permitindo distinguir diferentes formas do cálcio, mas exige preparo de amostra mais detalhado e infraestrutura laboratorial sofisticada (Rahimi-Yazdi; Ferrer; Corredig, 2010).

Considerando essas características, fica evidente que não há um método único capaz de atender a todas as demandas; a escolha deve estar alinhada aos objetivos da pesquisa e aos recursos disponíveis, reforçando que a interpretação dos resultados depende diretamente da técnica empregada.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do presente estudo, foi possível reconhecer que o cálcio iônico exerce papel central na estabilidade proteica do leite, influenciando tanto suas propriedades físico-químicas quanto sua biodisponibilidade. A literatura revisada mostrou que o equilíbrio entre cálcio, sais minerais, pH e proteínas é determinante para a manutenção da estrutura coloidal, que sustenta a qualidade do leite cru e processado. Nesse sentido, compreender a dinâmica do cálcio iônico representa não apenas um interesse acadêmico, mas também um requisito fundamental para a indústria de laticínios, que busca produtos mais estáveis e aceitos pelos consumidores.

O estudo do processamento térmico UHT permitiu compreender melhor os mecanismos que levam à instabilidade do leite durante o armazenamento. Observou-se que fenômenos como a gelificação etária e a sedimentação não ocorrem de forma isolada, mas resultam de uma cinética complexa de proteólise residual, controlada pela enzima plasmina e fortemente influenciada pela temperatura de armazenamento. Dessa forma, o controle da estabilidade a longo prazo depende da regulação da atividade enzimática residual, e não apenas da redução do efeito global do calor.

O uso de tecnologias de processamento não térmicas, como o Campo Elétrico Pulsado (PEF) e o Ultrassom de Alta Intensidade (US), ampliou as possibilidades além da simples conservação do leite. Essas técnicas surgem não apenas como alternativas mais suaves ao calor, mas também como ferramentas de precisão capazes de modificar seletivamente a estrutura das proteínas, alterando suas propriedades tecno-funcionais. Essa abordagem de “processamento para funcionalização” abre novas oportunidades de inovação, permitindo a criação de produtos lácteos com textura e estabilidade planejadas de forma controlada.

Outro ponto de destaque refere-se aos métodos de determinação do cálcio iônico, como o eletrodo íon seletivo, a cromatografia de troca iônica e a titulação complexométrica. Cada técnica apresenta vantagens e limitações, que precisam ser consideradas na escolha metodológica. É necessário reconhecer que a interpretação dos resultados está diretamente

vinculada à metodologia utilizada, o que reforça a importância de análises críticas e da aplicação de mais de uma técnica para ampliar a compreensão do leite e suas propriedades.

Evidencia-se a relevância de ampliar os estudos sobre cálcio iônico e estabilidade proteica no leite, considerando tanto os aspectos nutricionais quanto tecnológicos. A integração entre esses campos pode contribuir para o desenvolvimento de produtos mais estáveis, seguros e com maior aceitação sensorial, além de fornecer bases científicas para a inovação no setor de laticínios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANEMA, S. G. Age Gelation, Sedimentation, and Creaming in UHT Milk: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.18, p. 140-166, jan. 2019. DOI: [10.1111/1541-4337.12407](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12407). Acesso em: 12 mar. 2025.
- ANEMA, S. G. Effect of milk solids concentration on the pH, soluble calcium and soluble phosphate levels of milk during heating. **Dairy Science and Technology**, 89(5), 501–510, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1051/dst/2009026>
- ANEMA, S. G. The Whey Proteins in Milk: Thermal Denaturation, Physical Interactions, and Effects on the Functional Properties of Milk. **Elsevier**, 2014. p. 269-318.
- ASADA, A., YOSHIKAWA, K., SAKURAGAWA, A., NAGASHIMA, H. **Determination of potassium, magnesium and calcium in milk by ion chromatography**. Bunseki Kagaku, 66, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.66.67>
- BARONE, G.; YAZDI, S. R.; LILLEVANG, S. K.; AHRNÉ, L. Calcium: A comprehensive review on quantification, interaction with milk proteins and implications for processing of dairy products. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, Institute Of Food Technologists, Dinamarca, 25 f., 2021. DOI: [10.1111/1541-4337.12844](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12844). Acesso em: 25 nov. 2024.
- BARTHEL, C. **Methods used in the examination of milk and dairy products**. Macmillan and Co., Limited, 1910.
- BIRGE, S. J., PECK W. A., BERMAN M, WHEDON G. P. **Study of calcium absorption in man**. A kinetic analysis and physio logic model. J Clin Invest 1969; 48:1705-13.
- BONJOUR, J., P.; Calcium and phosphate: a duet of íons playing for bone health. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 30, n. 5, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/07315724.2011.10719988>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do leite UHT (UAT). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 08 set. 1997. Seção I.
- BUZINARO, Elizabeth F. *et al.* Biodisponibilidade do Cálcio Dietético. **Arq Bras Endocrinol Metab**. Botucatu, São Paulo. 2006. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/cee4982f-9ab2-4f70-9c8d-ce0ebd24a57d/content>. Acesso em: 28 ago. 2025.

CANO-SARMIENTO, C. et al. Zeta Potential of Food Matrices. **Food Engineering Reviews**, set. 2018.

CASHMAN K. D. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. **Br J Nutr**, 2002.

CHARLES P. **Calcium absorption and calcium bioavail ability**. J Int Med 1992; 231:161-8.

CHRISTIANSEN, M. V., SKIBSTED, L. H., AHRNÉ, L. Control of viscosity by addition of calcium chloride and glucono- δ -lactone to heat treated skim milk concentrates produced by reverse osmosis filtration. **International Dairy Journal**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104916>.

DEETH, H. C.; LEWIS, M. J. **High temperature processing of milk and milk products**. 1. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2017.

DE KRUIF, C. G., HUPPERTZ, T., URBAN, V. S., PETUKHOV, A. V. Casein micelles and their internal structure. **Advances in Colloid and Interface Science**, 171, 2012 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.01.002>

EMBRAPA. **Anuário Leite 2023**. Juiz de Fora: EMBRAPA - Gado de Leite, 2023.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J., JOHNSON, A., EAGLES, J., GANATRA, S., KENNEDY, H., GURR, M. I. Studies on calcium absorption from milk using a double-label stable isotope technique. **British Journal of Nutrition**, 62, 379–388, 1989.

FARAGE, G. de A.; Avaliação e comparação dos sistemas coloidais de leites UHT comercializados nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados**, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2023. Acesso em: 18 mar. 2025.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. 1. ed. Londres, 1998.

GARCIA A., ALTING A., and HUPPERTZ T.; Disruption of casein micelles by calcium sequestering salts: From observations to mechanistic insights. **International Dairy Journal**, 142, 2023.

GAUCHER, I. et al. Effects of storage temperature on physico-chemical characteristics of semi-skimmed UHT milk. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 1, p. 130-143, jan. 2008.

GAUCHERON, F. The minerals of milk. **Reproduction Nutrition Development**, v. 45, n. 4, p. 473-483, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1051/rnd:2005030>.

GAUR, V.; SCHALK, J.; ANEMA, S. G. Sedimentation in UHT milk. **International Dairy Journal**, v. 78, p. 92-102, mar. 2018.

GUYTON A.C., HALL J. E. Hormônio paratireóideo, calcitonina, metabolismo do cálcio e do fosfato, vitamina D, ossos e dentes. **Tratado de fisiologia médica**. 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. pp. 841-56.

GUEGUEN, Léon; POINTILLART, Alain. **The Bioavailability of Dietary Calcium**. Journal Of The American College Of Nutrition. 2000. Cap. 19. DOI: 10.1080/07315724.2000.10718083. Acesso em: 28 ago. 2025.

HEANEY R. P., WEAVER C. M.; **Oxalate: effect on calcium absorbability**. Am J Clin Nutr. 50, 1989.

HENDRIX, T., GRIKO, Y. V., PRIVALOV, P. L.; A calorimetric study of the influence of calcium on the stability of bovine α lactalbumin. **Biophysical Chemistry**, 84, 2000.

HOLT, C.; The milk salts and their interaction with casein. **Advanced dairy chemistry**. Vol. 3. 1997. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4409-5_6.

HORNE, D.S. Heat stability of milk. In: MCSWEENEY, P.L.H.; O'MAHONY J.A. **Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects**. 4. ed. Nova Iorque: Springer Science+Business Media, 2016. p. 225-246.

HUPPERTZ, T. Heat stability of milk. In: MCSWEENEY, P.L.H.; O'MAHONY J.A. **Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects**. 4.ed. Nova Iorque: Springer Science+Business Media, 2016. p. 179-196.

Institute of Medicine (IOM). **Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride**. Washington, 1997.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares: 2017-2018**. Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE. 2020.

KEZIA, K., LEE, J., ZISU, B., CHEN, G. Q., GRAS, S. L., & KENTISH, S. E. Solubility of calcium phosphate in concentrated dairy effluent brines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 65(20), 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05792>

KINDSTEDT, P. S., KOSIKOWSKI, F. V.; Improved complexometric determination of calcium in cheese. **Journal of Dairy Science**, 68(4), 806–809, 1985. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80896-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80896-1)

KOUTINA, G., KNUDSEN, J. C., ANDERSEN, U., & SKIBSTED, L. H. Temperature effect on calcium and phosphorus equilibria in relation to gel formation during acidification of skim

milk. **International Dairy Journal**, 36(1), 65–73, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.01.003>

LEWIS, M. J. The measurement and significance of ionic calcium in milk - A review. **International Journal of Dairy Technology**, fev. 2011.

LI, Y. et al. Investigating the age gelation of direct ultra-high-temperature milk: Effects of heat treatment and storage temperature. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 5, p. 3098-3114, 2024. DOI: 10.3168/jds.2023-24151.

LIN, M. J.; LEWIS, M. J.; GRANDISON, A. S.; **Measurement of ionic calcium in milk**. University Of Reading, Reino Unido, 59 v., 2006. Acesso em: 30 ago. 2025.

LUZ, R.; BARROS, M. B. de A.; ASSUMPÇÃO, D.; FONTANELLI, M. de M. B. F. A. A.; Fatores associados à ingestão de cálcio em adultos e idosos de um município do sudeste brasileiro. **Cadernos Saúde Coletiva**, São Paulo, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1414-462X202432040459>. Acesso em: 05 jul. 2025.

MASOTTI, F.; HESKETH, A. R.; CECCHINI, C. Analytical advances in the determination of calcium in bovine milk, dairy products and milk-based infant formulas: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 567-579, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.013>. Acesso em: 03 set 2025.

MOHAMMED, M. A. et al. Effects of pulsed electric field on the structural and physicochemical properties of casein micelles. **Polymers**, v. 15, n. 15, p. 3311, 2023. DOI: 10.3390/polym15153311.

NABILA, F. I. et al. A comprehensive review on pulsed electric fields (PEF) in milk and dairy products. **Food Science and Technology**, 2023. DOI: 10.1590/fst.118822.

NIEUWENHUIJSE, H.; HUPPERTZ, T. Heat-induced changes in milk salts: A review. **International Dairy Journal**, v. 126, mar. 2022.

NTAILIANAS, H. A.; WHITNEY, R. McL. Direct complexometric determination of the calcium and magnesium in milk (Eriochromeblack T method). **Journal of Dairy Science**, v. 46, n. 12, p. 1335-1342, 1963.

OEVER, S.; MAYER, H.; Analytical assessment of the intensity of heat treatment of milk and dairy products. **Elsevier**, Vienna, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105097>. Acesso em: 28 ago. 2025.

O'NEIL, C.; NICKLAS, T.; FULGONII, V.; Food Sources of Energy and Nutrients of Public Health Concern and Nutrients to Limit with a Focus on Milk and other Dairy Foods in

Children 2 to 18 Years of Age: National Health and Nutrition Examination Survey, 2011–2014. **Nutrients**, 2018. [DOI:10.3390/nu10081050](https://doi.org/10.3390/nu10081050). Acesso em: 27 mar. 2025.

ORDOÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos: componentes dos alimentos e processos**. v. 1. Porto Alegre: Artmed, 2005.

RAHIMI-YAZDI, S.; FERRER, M. A.; CORREDIG, M. Nonsuppressed ion chromatographic determination of total calcium in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 5, p. 1788-1793, 2010. [DOI: 10.3168/jds.2009-2446](https://doi.org/10.3168/jds.2009-2446). Acesso em: 03 set. 2025

RINALDI, G. et al. In vitro gastrointestinal digestion of liquid and semi-liquid dairy matrixes. **Food Chemistry**, v. 151, p. 331-338, 2014. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.11.082.

SALAÜN, F., MIETTON, B., GAUCHERON, F. Buffering capacity of dairy products. **International Dairy Journal**, 95–109, 2005. [DOI: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.06.007](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.06.007)

SCHMITT, M., SAULNIER, F., MALHAUTIER, L., & LINDEN, G. Effect of temperature on the salt balance of milk studied by capillary ion electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, 640(1–2), 419–424, 1993. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80211-P](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)80211-P)

SHARMA, P. et al. Pulsed Electric Field (PEF) processing of milk and dairy products: A review. **Encyclopedia**, 2023. Disponível em: <https://encyclopedia.pub/entry/45424>.

SIEVANEN, K. et al. Influence of added calcium chloride on the heat stability of unconcentrated and concentrated bovine milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 61, n. 2, p. 151-155, mai. 2008.

SILVA A. G. H., COZZOLINO S. Cálcio. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 6. ed. São Paulo: Manole Editora; 2020. p. 418-39.

SINGH, A.; SHARMA, G. S.; SINDHU, J. S.; KANSAL, V. K.; SANGWAN, R. B. Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. Department Of Human Nutrition And Dietetics, **Swiss Society Of Food Science And Technology**, India, 2006. [DOI:10.1016/j.lwt.2006.03.009](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.03.009). Acesso em: 25 nov. 2024.

SINGH, P.; WANI, A. A. Ultrasound and high-pressure processing of dairy and beverage products with encapsulated nutraceuticals. **Foods**, v. 11, n. 19, p. 2999, 2022. DOI: 10.3390/foods11192999.

SMEETS, W. T. G. M. The determination of the concentration of calcium ions in milk ultrafiltrate. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, 249–260, 1955.

SWAISGOOD, H. E. Chemistry of the caseins. In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Advanced Dairy Chemistry Volume 1: Proteins**. 3. ed. Nova Iorque: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003. p. 139-201.

TESSIER, H., ROSE, D. Calcium ion concentration in milk. **Journal of Dairy Science**, 41(3),351–359, 1958. DOI:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(58\)90927-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(58)90927-5)

UDABAGE P., MCKINNON I. R., AUGUSTIN M., Mineral and casein equilibria in milk: Effects of added salts and calcium-chelating agents. **Journal of Dairy Research**, 67 361–370, 2000.

WAWRZYNIAK, Natalia; SULIBURSKA, Joanna. **Nutritional and health factors affecting the bioavailability of calcium: a narrative review**. 2021. 79 v. Department Of Human Nutrition And Dietetics, Nutrition Reviews, Estados Unidos, 2021. DOI: 10.1093/nutrit/nuaa138. Acesso em: 23 nov. 2024.

WALSTRA, P.; M WOUTERS, J. T.; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology**. 2ed. Boca Raton: CRC Press, 2006.

WANG, Q., MA, Y.; Effect of temperature and pH on salts equilibria and calcium phosphate in bovine milk. **International Dairy Journal**, 110, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104713>

WENSEL, R. H., RICH, C., BROWN, A.C., VOLWILER W. **Absorption of calcium measured by intubation and perfusion of the intact human small intestine**. J Clin Invest, 1969.

WILKINSON R. Absorption of calcium, phosphorus and magnesium. In: Nordin BEC (ed). **Calcium, phosphate and magnesium metabolism**. Edinburgh/London/New York, 1976. pp. 36-112.

WOOSTER, T. J.; GEE, P. In vitro digestion methods for assessing minerals bioavailability: A review. **Nutrition Research Reviews**, v. 21, n. 1, p. 73-94, 2008.