



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS EM LEITES CRU
E BENEFICIADO PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO DISTRITO
FEDERAL E ENTORNO**

AMANDA L. BORGES DO CARMO AMORIM

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO/2017



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS EM LEITES CRU E
BENEFICIADO PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL E
ENTORNO**

AMANDA L. BORGES DO CARMO AMORIM

ORIENTADORA: MÁRCIA DE AGUIAR FERREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 136/2017

BRASÍLIA/DF

FEVEREIRO/2017

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS EM
LEITES CRU E BENEFICIADO PRODUZIDOS E
COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO.**

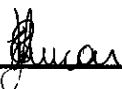
AMANDA L. BORGES DO CARMO AMORIM

DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO
SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM
SAÚDE ANIMAL,
COMO PARTE DOS
REQUISITOS
NECESSÁRIOS A
OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE EM
SAÚDE ANIMAL.

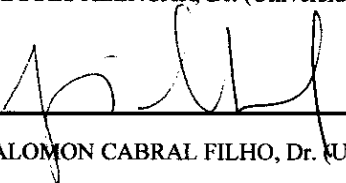
APROVADA POR:



MÁRCIA DE AGUIAR FERREIRA, Dra. (Universidade de Brasília) Orientadora



ERNANDES RODRIGUES ALENCAR, Dr. (Universidade de Brasília) (Membro externo)



SÉRGIO LÚCIO SALOMON CABRAL FILHO, Dr. (Universidade de Brasília)
(Membro externo)

BRASÍLIA/DF, 22 DE FEVEREIRO DE 2017

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

AMORIM, A.L.B.C. **Avaliação da presença de substâncias químicas em leites cru e beneficiado produzidos e comercializados no Distrito Federal e Entorno.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília, 2017, 49p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de Mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos; foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Amorim, Amanda L. Borges do Carmo

Avaliação da presença de substâncias químicas em leites cru e beneficiado produzidos e comercializados no Distrito Federal e Entorno./Amanda L. Borges do Carmo Amorim. Orientação de Márcia de Aguiar Ferreira, 2017. 49p.: il.

Dissertação de mestrado (M) – Universidade de Brasília/
Faculdade de Agronomia e Veterinária, 2017.

1. Leite beneficiado. 2. Qualidade. 3. Leite cru.
4. Fraudes. I. Ferreira, Márcia de Aguiar.
II. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, pela oportunidade de estar em uma Universidade de qualidade. Por me dar forças e me abençoar em todos os momentos. Por meio da fé pude ver a mão de Deus não só neste, mas em vários momentos da minha vida.

Agradeço em especial a minha mãe, Marly, pelo exemplo de força e honestidade. Sempre esteve ao meu lado, e sempre me incentivou e acreditou que eu seria capaz de grandes coisas.

Ao meu marido Bruno Amorim, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida acadêmica. Em todos os altos e baixos ele esteve presente, desde a graduação até agora. Agradeço pelo carinho, compreensão e amor demonstrados a mim. Você é um exemplo de generosidade.

Aos amigos do Lab Leite – UnB, pela paciência e bondade em toda a minha caminhada. Em especial a Jaqueline, Emanuel e Sabrina.

A professora Márcia, pela dedicação e direcionamento. Pelo exemplo de ser humano e profissional, e por estar junto comigo durante toda minha caminhada, me apoiando e tornando essa experiência mais entusiasmante.

Aos meus sogros, Magnólia e Jason, por me apoiarem e me ajudarem sempre que precisei. Vocês são meus pais do coração.

A CAPES pelo financiamento.

SUMARIO

LISTA DE QUADROS	VII
LISTA DE TABELAS	VII
RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
INTRODUÇÃO	1
MATERIAIS E MÉTODOS	3
RESULTADOS E DISCUSSÃO	6
CONCLUSÕES	20
REFERÊNCIAS	20
APÊNDICES	31
METODOLOGIAS UTILIZADAS	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Quantidade e origem das amostras de leites cru, pasteurizado e UAT (n=100) coletadas em laticínios e em estabelecimentos comerciais do Distrito Federal e Entorno.	4
Quadro 2: Resultados das análises físico-químicas e enzimáticas dos leites Ultra Alta Temperatura (UAT), pasteurizado e cru (n=100)	32
Quadro 3: Resultado da pesquisa de substâncias em leites UAT, pasteurizado e cru.....	36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Frequências de amostras de leites crus (produção formal e informal), pasteurizados e UAT (n=100), coletadas em laticínios e no comércio do Distrito Federal e Entorno, em desacordo com os padrões físico-químicos e enzimáticos.....	7
TABELA 2. Frequências de amostras de leites crus (formal e informal), pasteurizado e UAT (n=100), coletadas em laticínios e comércio do Distrito Federal e Entorno, em desacordo para a pesquisa de substâncias químicas. ...	15
TABELA 3: Média e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos dos leites Ultra alta temperatura (UAT), pateurizado e cru (n=100)	31

RESUMO

Para que seja adequado ao consumo o leite deve ser produzido em boas condições de higiene e obtido de animais sadios, entretanto essa não é a realidade de produção em diversos países, inclusive o Brasil. A adição fraudulenta de substâncias químicas ao leite é realizada principalmente, com a intenção de mascarar má qualidade. A legislação determina várias análises para o controle de qualidade tanto da matéria-prima quanto do produto final, e considera o leite fraudado/adulterado impróprio para o consumo humano. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade do leite produzido e comercializado no Distrito Federal e Entorno, por meio de análises físico-químicas, enzimáticas e pesquisa de substâncias neutralizantes, reconstituintes, conservantes e resíduos antibióticos em leites cru (n=32), pasteurizado (n=38) e UAT (n=30). Em adição, todas as amostras foram submetidas à prova de lactofermentação. Os resultados demonstraram que 86% das amostras apresentaram alteração em pelo menos um dos parâmetros pesquisados. A adulteração mais frequente foi a adição de cloretos (16%), seguida de sacarose (6%), alcalinos (2%) e antibióticos (1%). Os parâmetros alterados em relação às análises físico-químicas foram densidade (54%), crioscopia (29%), teor de gordura (11%), teor de proteína (6%), Sólidos Não Gordurosos (6%), alizarol (6%), acidez Dornic (4%), teor de lactose (1%) e pesquisa de peroxidase (1%). 41% das amostras apresentaram inconformidades na prova de lactofermentação. Todas as amostras apresentaram resultado negativo para a pesquisa de resíduos de amido, formol, cloro, hipoclorito, neutralizantes da acidez, peróxido de hidrogênio ou álcool etílico. A alta frequência de amostras de leite em desacordo com os padrões vigentes demonstra falhas no controle de qualidade das indústrias da região e na fiscalização, comprometendo a saúde do consumidor.

Palavras-chave: pasteurização do leite; ultra-alta temperatura; leite informal; fraude no leite.

ABSTRACT

To be suitable for consumption, milk must be produced in good hygienic conditions and obtained from healthy animals, but this is not the reality of production in several countries, including Brazil. The fraudulent addition of chemicals to milk is mainly done with the intention of masking poor quality. The legislation determines several analyzes for quality control of both the raw material and the final product, and considers fraudulent/adulterated milk unfit for human consumption. The objective of the present study was to evaluate the quality of the milk produced and commercialized in the Federal District and Surroundings, through physicochemical and enzymatic analyzes and research of neutralizing substances, reconstituents, preservatives and antibiotic residues in raw milks (n = 32), pasteurized (n = 38) and UHT (n = 30). In addition, all samples were submitted to lactofermentation test. The results showed that 86% of the samples presented alteration in at least one of the parameters studied. The most frequent adulteration was the addition of chlorides (16%), followed by sucrose (6%), alkaline (2%) and antibiotics (1%). The parameters altered in relation to the physicochemical analyzes were density (54%), cryoscopy (29%), fat content (11%), protein content (6%), Non-Fat Solids (6%), alizarol (6%), Dornic acidity (4%), lactose content (1%) and peroxidase research (1%). 41% of the samples presented nonconformities in the lactofermentation test. All the samples presented negative results for the search of residues of starch, formaldehyde, chlorine, hypochlorite, neutralizers of acidity, hydrogen peroxide or ethyl alcohol. The high frequency of milk samples in disagreement with the current standards shows failures in the quality control of the region's industries and in inspection, thus compromising consumer health.

Keywords: milk pasteurization; Ultra High Temperature; informal milk; fraud in milk.

INTRODUÇÃO

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define leite, sem outra especificação, como o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1952; BRASIL, 2011). O leite destinado ao consumo humano deve ser submetido a tratamentos térmicos que garantam a manutenção de suas características organolépticas, nutricionais e inocuidade. Os tratamentos térmicos permitidos para o leite fluido são a pasteurização e a ultra-alta temperatura (UAT).

Entende-se por leite pasteurizado, o leite fluido elaborado a partir do leite cru refrigerado na propriedade rural, posteriormente submetido a tratamento térmico na faixa de temperatura de 72 a 75°C durante 15 a 20 segundos na pasteurização rápida ou entre 62 e 65°C durante 30 minutos na pasteurização lenta, seguindo para o resfriamento imediato em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4°C, e envasado em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações (BRASIL, 1952; BRASIL, 2011).

O leite UAT ou Ultra High Temperature (UHT) é definido como o leite homogeneizado, submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130°C e 150°C mediante processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (BRASIL, 1952; BRASIL, 1997).

Por sua origem biológica, o leite pode apresentar variações nos seus componentes dependendo da origem animal, da raça, da alimentação, da idade, do número de parições, do tempo de lactação e do clima. Por esse motivo, são estabelecidos padrões para as características leite, que consideram essas variações, a partir dos quais é possível detectar problemas em todas as fases de produção, assim como, detectar adulterações no produto.

A legislação brasileira estabelece os padrões de qualidade para o leite cru e beneficiado e proíbe a adição de qualquer substância química na conservação do leite. Os parâmetros físico-químicos estabelecidos para os leites cru refrigerado e pasteurizado estão descritos na Instrução Normativa N.º 62 (BRASIL, 2011) e para o leite UAT na Portaria N.º 370 (BRASIL, 1997), ambas do MAPA. Essas

legislações têm como objetivo regulamentar a produção, o beneficiamento e fixar a identidade e as características mínimas do leite fluido no país. O controle da presença de substâncias químicas é realizado por meio do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC-MAPA), que avalia a presença de resíduos de medicamentos veterinários e contaminantes inorgânicos em produtos de origem animal não processados (BRASIL, 1999).

O leite é um dos alimentos frequentemente envolvidos em fraudes (MOORE; SPINK; LIPP, 2012). De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) considera-se fraudado, adulterado ou falsificado o leite que: 1) for adicionado de água; 2) tiver sofrido subtração de qualquer dos seus componentes, exceto a gordura nos tipos “C” e “magro”; 3) for adicionado de substâncias conservadoras ou quaisquer elementos estranhos à sua composição; 4) for de um tipo e se apresentar rotulado como de outro de categoria superior; 5) estiver cru e for vendido como pasteurizado; 6) for exposto ao consumo sem as devidas garantias de inviolabilidade (BRASIL, 1952).

As fraudes mais praticadas no leite são o aumento de volume, a adição de reconstituintes da densidade, neutralizantes da acidez e substâncias conservantes (TRONCO, 2008; KARTHEEK et al. 2011). Somada à motivação financeira, a prática de fraudar o leite pode ser incitada pela dificuldade na detecção das fraudes utilizando apenas as provas de rotina (OLIVEIRA, 2009; KARTHEEK et al. 2011; SILVA et al., 2015). Causam prejuízo ao consumidor tanto do ponto de vista econômico, quanto do ponto de vista sanitário, uma vez que a adição de substâncias químicas ao leite podem causar danos à saúde de quem consome esse alimento. Além disso, podem causar prejuízos a indústria, uma vez que a adição de substâncias químicas ou remoção de componentes do leite pode prejudicar a fabricação de seus derivados (BEHMER, 1999; FREITAS FILHO et al., 2011 ROSA et al., 2015; ROCHA et al., 2015).

Comprovações de fraude na indústria leiteira podem gerar insegurança no consumidor no que se refere ao leite formal. Em decorrência de fraudes, as pessoas podem associar o leite formal/industrializado a leite adulterado, ao mesmo tempo em que consideram o leite informal como um leite puro e saudável, sendo que este não passa por nenhum controle de qualidade ou por fiscalização. É importante ressaltar que tanto o leite formal adulterado, quanto o leite informal oferecem riscos a saúde do consumidor (BRANDÃO et al., 2015).

Em 2013, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em conjunto com o Ministério Público do Rio Grande do Sul, desencadeou a Operação Leite Compensado com o objetivo de coibir a fraude no leite cru que era realizada por um grupo de transportadores do interior do Rio Grande do Sul com adição de água e ureia agrícola. Em 2014 foi deflagrada a chamada Operação Leite Adulterado I e II no estado de Santa Catarina, e a III envolvendo os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com o objetivo de investigar e punir os envolvidos em adulteração de leite (BRASIL, 2013a; BRASIL, 2014).

Diversas pesquisas têm demonstrado que a fraude do leite ainda é prática comum no Brasil (CALDEIRA et al., 2010; FIRMINO et al., 2010; MENDES et al., 2010; ROSA-CAMPOS et al., 2011; SILVA, 2013; TAMANINI et al., 2013; MAREZE, J. et al., 2015; CORRÊA et al., 2015), sendo importante que estudos dessa natureza sejam realizados, afim de gerar dados que possam contribuir com a melhoria da qualidade do leite no país. Assim, o objetivo da pesquisa foi de avaliar a qualidade físico-química e a presença de substâncias químicas em leites cru e beneficiado produzidos e comercializados no Distrito Federal e Entorno.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local da pesquisa e coleta das amostras

O trabalho foi realizado no Laboratório de Análises de Leite e Derivados da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Brasília no período de março de 2015 a agosto de 2016.

Foram avaliadas amostras de leite cru recebido por laticínios, leite cru informal, leite pasteurizado (nove marcas diferentes) e leite UAT (oito marcas diferentes). Do total de amostras de leite UAT (n=30), 10 foram de leite integral, 10 de semi-desnatado e 10 de desnatado. Todas as amostras de leite pasteurizado (n=38) foram de leite integral. As amostras de leite cru formal foram coletadas em quatro laticínios da região, diretamente dos tanques de refrigeração, acondicionadas em frascos estéreis e mantidas refrigeradas até o momento das análises. As de leite cru informal foram adquiridas de feiras e de comerciantes ambulantes em suas embalagens originais (garrafas do tipo “pet”) e também, mantidas refrigeradas até as análises.

As amostras de leite pasteurizado foram adquiridas em estabelecimentos

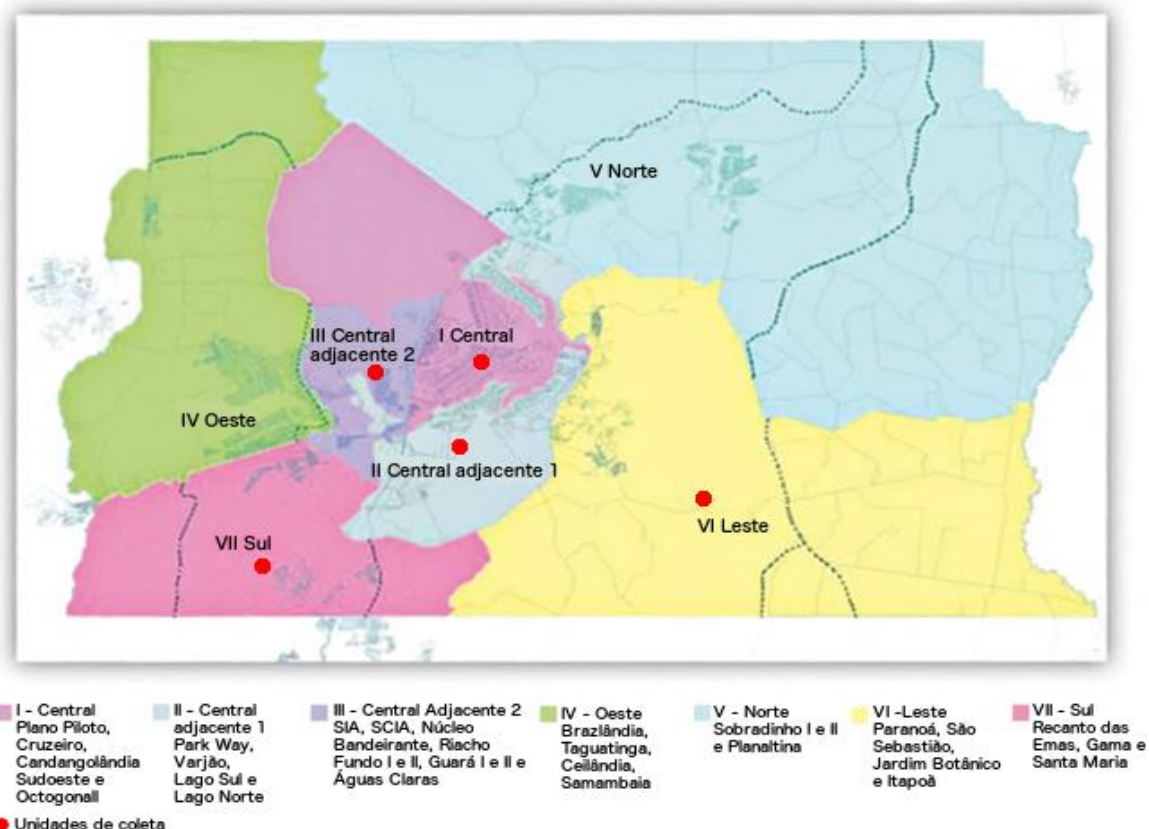
comerciais e em laticínios da região e transportadas refrigeradas para o laboratório. As amostras de leite UAT também foram coletadas em estabelecimentos comerciais e mantidas em temperatura ambiente até a realização das análises (Quadro1). O Distrito Federal está dividido em sete Unidades de Planejamento Territorial, e as coletas foram feitas em cinco dessas Unidades (mapa 1) e no Entorno.

Quadro 1: Quantidade e origem das amostras de leites cru, pasteurizado e UAT (n=100) coletadas em laticínios e em estabelecimentos comerciais do Distrito Federal e Entorno.

Origem das amostras			
Leites	Comércio (n)	Laticínios (n)	Total (n)
UAT	30	-	30
Pasteurizado	21	17	38
Cru formal	-	18	18
Cru informal	14	-	14
Total (n)	65	35	100

Legenda: UAT (Ultra Alta Temperatura)

Mapa 1: Unidades de Planejamento Territorial (UPT) do Distrito Federal e Unidades de coletas.



Fonte: Correio Brasiliense (adaptado)

Análises físico-químicas e enzimáticas

Todas as amostras (n=100) foram submetidas às análises físico químicas para determinação dos teores de gordura, sólidos não gordurosos (SNG), densidade, proteína e lactose por meio do equipamento ultrassônico Ekomilk® conforme indicações do fabricante. O índice crioscópico foi determinado a partir do ponto de congelamento em crioscópio eletrônico Laktron®-M-90. As análises de estabilidade ao alizarol, acidez pelo método Dornic e pesquisa da enzima peroxidase foram realizadas conforme estabelecido na Instrução Normativa 68 (BRASIL, 2006). Para a pesquisa de fosfatase alcalina utilizou-se o teste colorimétrico Bioclin® (Quibasa Química Básica Ltda) (SEIXAS et al., 2014).

Pesquisa de substâncias químicas e lactofermentação

As substâncias químicas pesquisadas em todas as amostras (n=100) foram: reconstituintes (cloretos, álcool etílico, amido, sacarose), conservantes (cloro e hipoclorito, peróxido de hidrogênio, formol), neutralizantes da acidez (alcalinos)

conforme metodologias preconizadas pela IN 68/2006 (Brasil, 2006), com exceção das pesquisas para presença de sacarose e de alcalinos que foram realizadas de acordo com o proposto por Pereira et al., 2001.

Para a pesquisa de formol utilizou-se o reagente FormFix® (Macrofren Tecnologias Químicas/CDT/UnB) e, em pool (10% do total de amostras de cada tipo de leite) pelo método oficial (BRASIL, 2006). Para pesquisa de antibióticos foi utilizado o kit Charm Test® II (Charm Sciences Inc). Ambas as metodologias foram realizadas conforme instruções dos fabricantes.

Ainda, foi realizada a prova da lactofermentação para avaliação do tipo de coágulo formado a partir da incubação a 37 °C por 24 h, em condições assépticas, de 10 mL de cada amostra. Os coágulos foram classificados como digeridos (coágulos pequenos e retraídos na parede do tubo, com grande separação de soro), gelatinosos (coágulos perfeitos, sem separação de soro e lisos) e líquidos (leite não coagulado) (BEHMER, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de amostras (n=100) 86% estavam em desacordo com a legislação em pelo menos um dos parâmetros pesquisados. Os resultados das análises físico-químicas e enzimáticas estão contidos na Tabela 1.

Na análise da crioscopia, 29% do total de amostras analisadas, estiveram em desacordo com a legislação, sendo que destas, dez amostras (10%) de leite pasteurizado e duas (2%) de leite cru informal apresentaram índice crioscópico (IC) acima de $-0,530^{\circ}\text{H}$, indicando fraude por adição de água. Entretanto, 13 (13%) amostras de leite UHT, uma (1%) de leite pasteurizado e quatro (4%) de leite cru (uma de informal e três de formal) apresentaram IC baixos, indicando possíveis alterações devidas a tentativas de reconstituição da crioscopia. O padrão vigente de IC para o leite bovino é de $-0,530^{\circ}\text{H}$ a $-0,550^{\circ}\text{H}$ (BRASIL, 1997; BRASIL, 2011).

TABELA 1: Frequências de amostras de leites crus (produção formal e informal), pasteurizados e UAT (n=100), coletadas em laticínios e no comércio do Distrito Federal e Entorno, em desacordo com os padrões físico-químicos e enzimáticos.

Amostras em desacordo (%)					
Análises	Leite cru informal (n=14)	Leite cru formal (n=18)	Pasteurizado (n=38)	UAT (n=30)	Total (n=100)
Crioscopia	5 (35,7%)	1 (5,5%)	10 (26,3%)	13 (43,3%)	29 (29%)
Densidade	7 (50%)	5 (27,7%)	22 (57,9%)	20 (66,6%)	54 (54%)
Estabilidade ao alizarol	1 (7,1%)	0	1 (2,63%)	4 (13,3%)	6 (6%)
Acidez Dornic	2 (14,2%)	0	1 (2,6%)	1 (3,3%)	4 (4%)
Gordura	0	2 (11,1%)	9 (23,6%)	0	11 (11%)
SNG	3 (21,4%)	1 (5,5%)	2 (5,2%)	0	6 (6%)
Proteínas	4 (28,57%)	1 (5,5%)	2 (5,2%)	0	7 (7%)
Lactose	1 (7,1%)	0	0	0	1 (1%)
Peroxidase	0	0	1 (5,8%)	0	1 (1%)
Fosfatase alcalina	0	0	0	0	0

Legenda: UAT = Ultra Alta Temperatura; SNG= Sólidos Não Gordurosos

A determinação do IC pelo ponto de congelamento é considerada uma análise de precisão para a identificação de fraude por aguagem que acontece a uma temperatura inferior a 0°C, portanto, menor que a da água (CORRÊA et al., 2015; BRASIL, 1952). Esse índice pode ainda indicar se a amostra foi adicionada de algum soluto para mascarar a adição de água, uma vez que quanto mais baixo, mais distante do ponto de congelamento da água. Além do prejuízo econômico o leite adicionado de água pode gerar danos a saúde do consumidor pela adição de água não tratada.

A legislação não estabelece padrão em leite UAT nem para a crioscopia e nem para a densidade. Nesse leite é permitida a adição de estabilizantes, como o citrato de sódio, em até 0,1% no processamento (BRASIL, 1997). Beloti et al. (2010) observaram que a adição de 0,1% de citrato de sódio provoca abaixamento no ponto de congelamento do leite, alterando a crioscopia em -0,020°H. Portanto, a crioscopia do leite UHT deveria estar entre -0,550°H e -0,570°H. Se esse intervalo fosse considerado como padrão para o presente estudo, 17 (17%) amostras estariam fora do padrão, com crioscopia acima de -0,550°H.

Mendes et al. (2010) em estudo feito em Mossoró-RN e Silveira & Bertagnolli (2014) em estudo feito em Santa Maria-RS avaliaram amostras de leite cru informal e verificaram, respectivamente, 50% e 20% de amostras com IC alto. Ribeiro Júnior et al. (2013) num estudo em Ivaiporã – PR com leite cru refrigerado, verificaram que 8,10% do total de 74 amostras avaliadas apresentaram valores mais próximos de zero em relação ao padrão de -0,530°H, e 13 (17,56%) amostras apresentaram índice crioscópico mais baixo que -0,550°H.

Gonzaga et al. (2015) e Mareze et al. (2015) em estudos conduzidos no estado do Paraná, detectaram, respectivamente, 33 e três amostras de leites pasteurizados fora do padrão para crioscopia. Souza et al. (2014) avaliaram 39 amostras de leite UAT coletadas no Estado de MG e verificaram que nove apresentaram índice superior a -0,550°H. Já Porto (2015) em estudo conduzido em Teresina-PI e Rosa et al. (2015) em estudo conduzido em Erechim-RS avaliaram leites UAT encontraram valores de IC que atendem a legislação.

O padrão estabelecido para o teor da densidade é de 1,028 a 1,034 g/mL (BRASIL, 2011). Na determinação desse parâmetro, do total de amostras, 54 (54%) estavam alteradas. Sendo que, 20 (20%) de leite UAT; 21 (21%) de leite pasteurizado e cinco (5%) de leite cru (três de informal e duas de formal)

apresentaram densidade elevada, e uma (1%) de leite pasteurizado e sete (7%) de leite cru (quatro de informal e três de formal) apresentaram densidade baixa. Valores menores do que 1,028 gramas/mL sugerem adição de água ao leite já que a densidade da água é menor que a do leite. Densidade acima do esperado pode significar adição de reconstituintes, como amido, cloreto, e compostos orgânicos ou ainda a retirada de gordura do leite, já que a densidade deste componente é menor que a da água (CORRÊA et al., 2015).

A adição de água altera tanto a crioscopia quanto a densidade. No presente estudo, de três amostras de leite pasteurizado e de duas amostras de leite cru com IC maior que $-0,530^{\circ}\text{H}$, nenhuma teve alteração da densidade. No entanto, seis amostras de leite pasteurizado com IC alto, apresentaram densidade elevada, o que pode indicar que os leites foram adicionados de água e reconstituídos, para mascarar a fraude por adição de água.

Para Mendes et al. (2010) o valor do IC só pode ser levado em consideração se os valores da densidade também estiverem alterados. Esses autores avaliaram amostras de leite cru informal, no município de Mossoró-RN, e verificaram amostras com IC alto e densidade normal, chegando à conclusão que as alterações do IC foram em decorrência da alimentação fornecida aos animais, e não a fraude por aguagem. No entanto, o IC é um índice de precisão, diferente do teor de densidade. Sendo assim, é possível concluir que entre os dois testes, o IC é mais confiável. Para Villa & Pinto (2008), o valor da densidade é útil na detecção de fraudes por adição de água ao leite, no entanto, esse não é um teste conclusivo para determinação desta fraude, já que a densidade pode ser alterada em função de outros fatores, como o excesso de gordura ou um processo de desnate variando a composição do leite.

Mendonça et al. (2015) em estudo conduzido no Paraná e Molina et al. (2015) em Itaquí-RS verificaram amostras de leite cru informal com valores médios de densidade abaixo de 1,028g/mL. Ribeiro Júnior et al. (2013) verificaram quatro amostras de leite cru refrigerado em desacordo para esse parâmetro. Já Firmino et al. (2010) em Minas Gerais e Mendes et al. (2014) no Rio Grande do Norte, avaliaram amostras de leite cru refrigerado e Silveira & Bertagnolli (2014) no Rio Grande do Sul avaliaram amostras de leite cru informal, e todos eles verificaram amostras em conformidade com a legislação.

Mareze et al. (2015) verificaram uma amostra de leite pasteurizado com

densidade acima do valor de referência. Rios et al. (2011) avaliaram a sensibilidade da prova do amido em leite pasteurizado e constataram que até 0,5% de amido de milho e 2,5 % de farinha de trigo podem mascarar a adição de 5% de água na prova de densidade. Souza et al. (2014) em estudo realizado em MG e Rosa et al. (2015) verificaram variações de densidade dentro dos padrões estabelecidos por lei para o leite UAT.

A densidade pode ser um bom indicador do leite que sofreu desnate excessivo. Densidade acima de $1,034 \text{ g/cm}^3$ pode acontecer devido ao desnate excessivo, pois a gordura é o único constituinte do leite que tem densidade menor que a água (BEHMER, 1999; TRONCO, 2008). Seis amostras que apresentaram densidade elevada também estavam com teores de gordura abaixo do estabelecido.

De acordo com o teor de gordura a legislação classifica os leites como: integral mínimo de 3%; semidesnatado de 2,9% a 0,6% e desnatado no máximo 0,5% (BRASIL, 1997; BRASIL, 2011).

Na avaliação geral dos resultados observou-se que o teor de gordura ficou abaixo do esperado em 11 (11%) amostras sendo que, duas (2%) foram de leite cru formal e nove (9%) de leite pasteurizado. Teores de gordura abaixo do limite mínimo (3%) recebidos pelo laticínio comprometem o rendimento industrial de derivados e leites beneficiados com teores alterados são considerados fraudados. Na pesquisa, buscou-se o preparo das amostras com rigor, em especial na homogeneização adequada antes das análises, de forma a não comprometer os resultados obtidos. Dessa forma, pode-se afirmar que as amostras com resultados abaixo do determinado estavam fraudadas por desnate excessivo. Ressaltando que a responsabilidade sobre a qualidade da matéria prima e do produto final é da indústria.

Cardoso (2014) e Mendes et al. (2014) em estudos com leite cru refrigerado, verificaram respectivamente, 50% e 5,5% das amostras em desacordo com as condições legais para esse parâmetro. Mareze et al. (2015) encontraram 10 amostras de leite pasteurizado com teor de gordura inferior a 3%. Firmino et al. (2010) em estudo com leite cru refrigerado e Porto et al. (2015), em estudo com leites pasteurizados verificaram todas as amostras dentro dos padrões estabelecidos pela legislação para esse parâmetro.

A prova do alizarol tem como objetivo verificar a estabilidade da principal proteína do leite que é a caseína. A legislação estabelece que o leite deva ser estável

ao teste do alizarol, verificada pelo desenvolvimento de coloração tijolo e formação de grumos finos já que constitui uma solução alcoólica, que instabiliza a proteína. O leite ácido tem tendência a um esmaecimento da cor, passando para uma tonalidade entre o marrom claro e amarelo. Na acidez elevada ou no colostro, a coloração é amarela, com coagulação forte. Leite com reação alcalina (mamites, presença de neutralizantes) apresenta coloração lilás a violeta. (BRASIL, 1997; Brasil, 2006; BRASIL, 2011).

Do total de amostras, quatro (4%) apresentaram aspecto de alcalinidade no teste do alizarol, sendo que destas, uma (1%) foi de leite pasteurizado e três (3%) de leite UAT e duas (2%) apresentaram instabilidade, sendo uma (1%) de leite cru informal e uma (1%) de leite UAT. Essa análise apesar de ser classificada como qualitativa, deve ser realizada diariamente na captação do leite cru, na chegada ao laticínio, no leite cru refrigerado estocado imediatamente antes do tratamento térmico e no leite pasteurizado (BRASIL, 2011). O leite que não estiver dentro do padrão de normalidade exigido na legislação não deve ser encaminhado para o beneficiamento. Para a confirmação da acidez ou alcalinidade do leite, é realizada a prova de titulação da acidez pelo método Dornic, em que amostras com valor inferior a 14^oD são consideradas alcalinas e amostras com valor superior a 18^oD são consideradas ácidas.

Agnese et al (2002) no Rio de Janeiro e Montanhini & Hein (2013) no Paraná encontraram, respectivamente, 25% e 8,6% de amostras de leite cru informal instáveis a prova do alizarol. Magalhães et al. (2015) em Aracajú e Silva (2013) no Paraná verificaram, respectivamente 20% e 7% de amostras de leite pasteurizado instáveis no teste do alizarol. Já Mendes et al. (2010) verificou 100% de amostras de leite cru informal com estabilidade térmica no que diz respeito a essa prova.

Souza et al. (2010) em estudo com leites UAT comercializado em Londrina – PR, encontram 20% em desacordo com a legislação. Já Robim (2011) e Rosa et al. (2015) verificaram todas as amostras estáveis ao álcool 72%, que também verifica a estabilidade da proteína.

Tamanini et al. (2013) avaliando 60 amostras de leite UAT, coletadas em Londrina –PR relatam que todas as amostras foram estáveis ao álcool 68% e, verificaram ainda, que todas as amostras apresentaram estabilidade nas concentrações de 72%, 76% e 80% de álcool.

A acidez titulável pelo método Dornic (°D), determina a quantidade ácido

lático presente no leite e, o limite estabelecido é de 14°D a 18°D (BRASIL, 2011). Os resultados mostraram que quatro (4%) amostras estavam desacordo com o padrão e destas, uma amostra (1%) de leite cru informal foi considerada ácida e, uma amostra de leite cru informal, uma de pasteurizado e uma de UAT foram classificadas como alcalinizadas. Além disso, duas amostras (uma de leite UAT e uma de leite cru informal) apresentaram instabilidade no teste do alizarol, mas não apresentaram acidez acima de 18°D, podendo ser classificadas como Leite Instável Não Ácido (LINA). A acidez titulável ou adquirida reflete a produção de ácido lático, sendo uma possível indicadora de higiene e conservação do leite. Valores muito elevados de acidez podem indicar possível contaminação do leite, uma vez que os microrganismos metabolizam a lactose, formando ácido lático. Por outro lado, valores baixos de acidez podem indicar a presença de alguma substância alcalina (CORRÊA et al., 2015). O Leite Instável Não Ácido (LINA) é caracterizado pela perda de estabilidade da proteína, resultando na precipitação na prova do álcool sem, entretanto, apresentar acidez acima de 18°D. Essa alteração não tem causas bem definidas (MARQUES et al., 2007).

Montanhini & Hein (2013) e Silveira & Bertagnolli (2014) verificaram amostras de leite cru informal com acidez superior ao estabelecido, nos estados do Paraná e Rio Grande do Sul, respectivamente. Mendonça et al. (2015) em estudo com 20 amostras de leite cru informal verificaram quatro com acidez abaixo de 14°D e sete com acidez acima de 18°D. Tamanini et al. (2013) em estudo com amostras de leite UAT produzidos na região sul, verificaram uma amostra com resultado acima do limite máximo e uma com resultado abaixo do limite mínimo.

Já Porto et al. (2015) em estudo com 96 amostras de leite pasteurizado e Rosa et al. (2015) em estudo com leite UAT, verificaram que a acidez titulável esteve dentro dos padrões estabelecidos para todas as amostras. Silva (2013) verificou 7% de amostras de leite pasteurizado instáveis no teste do alizarol, sendo que essas foram de Leite Instável Não Ácido (LINA).

Os SNG correspondem à soma dos componentes do leite, com exceção da água e da gordura. A diminuição desses componentes indica possível redução no teor de proteínas e lactose. O padrão estabelecido para SNG em leite bovino é de no mínimo 8,4% (BRASIL, 2011). Das 100 amostras, seis (6%) estavam com SNG abaixo do preconizado, sendo que quatro (4%) eram de leite cru (três de informal e uma de formal) e duas (2%) de leite pasteurizado.

Com relação à proteína, sete amostras (7%) apresentaram teores abaixo do mínimo estabelecido para leite bovino que é de 2,9% sendo que, seis eram as mesmas identificadas com SNG baixo. Em leite de conjunto e beneficiado, a análise do teor de proteínas não indica exatamente a origem da não conformidade (adição de soro, água, leite com baixa qualidade microbiológica, entre outras), mas pode servir de base para outras análises como crioscopia e microbiológicas (PORTO et al. 2015). Entretanto, os baixos teores encontrados podem ser devidos à contaminações por microrganismos psicrotróficos proteolíticos, que não foram avaliados nessa pesquisa.

Montanhini & Hein (2013), observaram 48% de amostras de leite cru informal em desacordo com a legislação em relação ao SNG, e seis amostras com teor de proteína abaixo do estabelecido. Silveira & Bertagnolli (2014) verificaram duas amostras de leite cru informal estavam em desacordo com a legislação em relação ao SNG e uma em relação à proteína e, Molina et al. (2015) encontraram 13 amostras em desacordo em relação ao SNG e todas em em relação a proteína.

Firmino et al. (2010) verificaram 100% de amostras de leite cru refrigerado coletadas no estado de Minas Gerais, de acordo com a legislação em relação ao SNG. Já Cardoso (2014) observou 41,67% de amostras de leite cru refrigerado em desacordo com as condições legais para SNG e todas as amostras em acordo com o estabelecido em relação a proteína. Ribeiro Júnior et al. (2013) encontraram 14,14% de amostras de leite cru refrigerado em desacordo com teores de proteína alterados. Mareze et al. (2015) e Porto et al. (2015) verificaram amostras de leite pasteurizado abaixo do padrão para SNG sendo que esses últimos, também relataram baixos teores de proteínas.

A pesquisa de lactose não é obrigatória, mas o RIISPOA (BRASIL,1952) estabelece o teor mínimo de 4,3%. Uma (1%) amostra de leite cru informal apresentou teor abaixo do permitido. A lactose é o principal carboidrato do leite. Tem origem principalmente na glicose sanguínea, que no tecido mamário une-se a galactose, formando a molécula de lactose. 11% desse carboidrato estão associados às proteínas, portanto não se encontra inteiramente em solução no leite (KOBBLITZ, 2011). Representa aproximadamente a metade dos sólidos não gordurosos e é fundamental no processo de acidificação do leite (fermentação e maturação). Contribui com o valor nutricional e está relacionada com a textura, cor e sabor do produto. A sua determinação é importante para o estabelecimento do valor nutritivo

e composição centesimal do leite e, conseqüente enquadramento nos padrões de qualidade (BRASIL,2013).

Motta et al. (2015) observaram 100 amostras de leite cru informal e verificaram 40% com teor de lactose menor que 3,9% estando em desacordo com a IN 62.

As enzimas pesquisadas no leite são a peroxidase e a fosfatase alcalina sendo a primeira resistente às temperaturas de pasteurização, e a segunda considerada sensível. No leite cru as duas enzimas devem estar ativas; a pasteurização inativa a fosfatase alcalina e o sistema UAT inativa ambas. No teste da peroxidase uma (1%) amostra de leite pasteurizado foi negativa indicando que o leite foi superaquecido. O superaquecimento pode ser considerado fraude e produz impactos na qualidade nutricional do leite por desnaturação proteica.

Gonzaga et al. (2015) analisaram 457 amostras de leite pasteurizado produzido no Estado do Paraná, e verificaram que a peroxidase estava ausente em sete amostras. Esses autores ressaltaram que leites com baixa qualidade microbiológica são superaquecidos para garantir a durabilidade e os parâmetros microbiológicos até a validade. Magalhães et al. (2015) analisando 20 amostras de leite pasteurizado em Aracaju-SE, verificaram que a enzima peroxidase esteve ausente em 45% das amostras.

Os resultados da pesquisa demonstraram que 27 amostras (27%) estavam fraudadas por substâncias químicas. 24 amostras (24%) apresentaram-se fraudadas por substâncias reconstituintes da densidade, sendo 18 amostras por cloretos e seis por sacarose; duas amostras (2%) foram positivas para a pesquisa de neutralizantes da acidez (alcalinos) e, em uma amostra (1%) foi detectada a presença de resíduos de antibióticos (Tabela 2).

TABELA 2. Frequências de amostras de leites crus (formal e informal), pasteurizado e UAT (n=100), coletadas em laticínios e comércio do Distrito Federal e Entorno, em desacordo para a pesquisa de substâncias químicas.

Amostras em desacordo (%)					
Substâncias químicas	Leite cru informal (n=14)	Leite cru formal (n=18)	Pasteurizado (n=38)	UAT (n=30)	Total (n=100)
Cloretos	4 (28,5%)	2 (11,1%)	9 (23,68%)	3 (10%)	18 (18%)
Sacarose	0	1 (5,5%)	0	5 (16,6%)	6 (6%)
Amido	0	0	0	0	0
Álcool etílico	0	0	0	0	0
Neutralizantes	0	0	0	2 (6,6%)	2 (2%)
Peróxido de hidrogênio	0	0	0	0	0
Formol	0	0	0	0	0
Cloro e Hipoclorito	0	0	0	0	0
Antibiótico	1 (7,1%)	0	0	0	1 (1%)

Com relação à presença de cloretos, das 18 amostras positivas três (16,66%) eram de leite UAT, nove (50%) de pasteurizado e seis (33,34%) de leite cru (quatro de leite informal e duas coletadas em laticínios). Na pesquisa da presença de sacarose, das seis amostras positivas cinco (83,33%) eram de leite UAT e uma (16,67%) era de leite cru formal.

O principal objetivo da adição de substâncias reconstituintes, como os solutos, ao leite é de mascarar a fraude por adição de água que reduz a densidade do leite e aumenta o IC, enquanto que a adição de reconstituintes produz o efeito inverso. Atualmente, observa-se um aperfeiçoamento dessas fraudes, com a utilização equilibrada de substâncias reconstituintes dificultando a identificação da adulteração por meio das análises convencionais (SILVA et al., 2016). A adição de sacarose ainda torna o volume de carboidratos maior do que realmente é na composição centesimal do leite impactando no teor de carboidratos do leite e também, no SNG (CORRÊA et al., 2015).

Agnese et al (2002) no RJ e Ponsano et al. (2001) em São Paulo, em pesquisa com amostras de leite cru informal, encontraram respectivamente, 5% e 11,11% de amostras positivas para a pesquisa de cloretos. Mendes et al. (2010) não detectaram a presença dessas substâncias nas amostras de leite cru analisadas.

Firmino et al. (2010), analisaram 60 amostras de leite cru refrigerado e observaram resultados positivos em 36% na análise de cloretos e, 6% positivas para sacarose. Costa et al. (2013) avaliaram 6.873 amostras de leite cru refrigerado no Estado de Goiás, e encontraram 0,35% das amostras positivas na pesquisa de cloretos e nenhuma positiva para sacarose. Por outro lado, Monteiro & Coelho (2014) verificaram 100% de amostras de leite cru refrigerado coletadas no Estado de Goiás negativas para a presença de cloretos.

Rosa-Campos et al. (2011) ao analisarem 72 amostras de leite pasteurizado no Distrito Federal relataram a presença de cloretos em 1,39%. Mareze et al. (2015) e Silva (2013) verificaram que 100% das amostras foram negativas para a pesquisa dessa substância. Tamanini et al. (2013) em pesquisa com 60 amostras de leite UAT comercializados em Londrina, estado do Paraná, detectaram a presença de cloreto em duas amostras e de sacarose em sete amostras. Já Souza et al. (2014) avaliando 39 amostras de leite UHT em Minas Gerais, não detectaram a presença de cloretos porém, identificaram a presença de sacarose em quatro amostras.

Nenhuma amostra apresentou resultado positivo na análise de amido e de álcool etílico, sendo que essas substâncias também são usadas, de forma fraudulenta, como reconstituintes da densidade do leite (MOLINA et al., 2015; SILVA, 2013).

Na pesquisa de substâncias neutralizantes (bicarbonato de sódio, carbonato de sódio ou outros alcalinos), duas amostras de leite UAT apresentaram resultados positivos. A adição dessas substâncias tem por finalidade neutralizar a acidez do leite e mascarar uma possível qualidade microbiológica insatisfatória, já que uma das causas do aumento da acidez é o desenvolvimento de bactérias do grupo dos Coliformes que, ao fermentarem a lactose produzem ácidos e conseqüentemente, a precipitação da caseína devido à acidificação. Santos & Santos (2010) em trabalho com 16 amostras de leite UHT coletadas em Cuiabá – MT, verificaram que uma amostra apresentou resíduos de alcalinos (bicarbonato de sódio).

Do total de amostras, uma de leite cru informal foi positiva para a pesquisa de antibióticos. A presença de resíduos de antibióticos no leite, geralmente é devido a manejo inadequado para controle de mastite, quando não é respeitado o período de carência para a completa eliminação da droga. De acordo com a legislação, animais em tratamento devem ser ordenhados em separado e o leite deve ser descartado, não devendo ter nenhum tipo de aproveitamento (BRASIL, 1952; BRASIL, 2011). A pesquisa de resíduos de antibióticos deve ser realizada pelo menos uma vez a cada mês e, em unidade operacional da Rede Brasileira de Laboratórios para Controle da Qualidade do Leite, independentemente das análises realizadas na frequência estipulada pelo Programa de Controle de Qualidade interno da Granja Leiteira.

Os antibióticos são substâncias resistentes aos tratamentos térmicos aplicados ao leite, portanto se presentes no leite cru (matéria prima) persistirão nos produtos finais, por isso é importante a sua detecção pela indústria. Além dos prejuízos que podem acarretar para as indústrias por inibirem o desenvolvimento de culturas lácticas essenciais para a produção de derivados, representam risco à saúde do consumidor, em especial aos indivíduos sensíveis à penicilina (MOLINA et al., 2015). O consumo de leite contaminado com resíduo antibiótico pode gerar graves problemas de saúde, como alergias, intoxicações, seleção de bactérias resistentes no organismo e descontrole da microbiota intestinal (CORRÊA et al., 2015; SILVA, 2013).

Molina et al. (2015) em estudo com 21 amostras de leite cru de informal

verificaram que 23,8% das amostras estavam contaminadas com antibióticos. Motta et al. (2015) em pesquisa com 100 amostras de leite cru informal no estado de São Paulo, constatou que 59% do leite informal na região estudada encontrava-se em desacordo com a legislação brasileira. Já Becker et al. (2010), analisaram seis amostras de leite cru informal comercializados em Medianeira e Serranópolis do Iguaçu – Paraná e não encontraram nenhuma amostra positiva para antibióticos.

Todas as amostras foram negativas nas análises para detecção de substâncias conservantes. No Brasil, diferentes autores relatam a presença de substâncias conservantes no leite. Sousa et al. (2011) pesquisaram fraudes em 100 amostras de leite UAT produzido em 6 estados brasileiros (Paraná, Rio Grande do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Goiás) e detectaram 44 amostras positivas para a presença de formol, 30 positivas para peróxido de hidrogênio e 12 para cloro. Em Garanhuns-PE, foi detectada a presença de cloro (13%) e peróxido de hidrogênio (20%) em 15 amostras de leite cru (FREITAS FILHO et al., 2009). Rosa-Campos et al. (2011) pesquisaram fraudes por adição de neutralizantes e conservantes em 72 amostras de leite pasteurizado produzido no Distrito Federal e detectaram sete amostras positivas para peróxido de hidrogênio. Fimino et al. (2010) analisaram 60 amostras de leite cru refrigerado em Minas Gerais e detectaram a presença de formol em 13% e de nitrato em 40% destas. Mendes et al. (2010) estudos com leite informal produzido em Mossoró-RN não detectaram fraudes por adição de reconstituintes, neutralizantes ou conservantes. Silva (2013), em estudo com 100 amostras de leites pasteurizados, encontrou todas em conformidade para a pesquisa de substâncias conservantes (formol, cloro, hipoclorito e peróxido de hidrogênio)

O peróxido de hidrogênio é capaz de promover alterações na qualidade nutricional do leite, como a redução de vitaminas A, B1 e C. Apresenta rápida degradação, sendo assim é pouco provável que cause efeitos adversos ao consumidor (LÜCK, 1962).

Em 1995, a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) da Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou o formol como provável cancerígeno em humanos. A partir de 2004, a IARC classificou este composto como carcinogênico, tumorogênico e teratogênico por produzir efeitos na reprodução em humanos. Devido a sua solubilidade em água, o formol é rapidamente absorvido no trato respiratório e gastrointestinal e metabolizado (ANVISA, 2013).

O cloro e o hipoclorito são compostos amplamente utilizados na higienização de instalações e equipamentos em propriedades leiteiras e laticínios, devido a sua alta eficácia e baixo custo. Não são estáveis na presença de matéria orgânica, sendo assim podem ser de difícil detecção se adicionados ao leite, ou na forma de resíduos ambientais. O hipoclorito é corrosivo para pele e mucosas e pode provocar irritação do trato gastrointestinal (SILVA, 2013).

Na prova da lactofermentação, 41 (41%) das amostras apresentaram resultados com inconformidades. Deste total, 28 amostras (28%) de leite pasteurizado, 11 (11%) de leite cru (nove de informal e duas de formal) e uma amostra (1%) de leite UAT apresentaram coágulo digerido e outra amostra (1%) de leite UAT apresentou coágulo gelatinoso. Essa prova tem como objetivo a verificação qualitativa da contaminação microbiana predominante no leite cru, com base no aspecto, odor e tipo de coágulo formado, porém foi utilizada também, como uma ferramenta auxiliar na avaliação da qualidade do leite beneficiado.

A alta ocorrência de coágulos digeridos observada nas amostras de leite cru e pasteurizado indica qualidade da matéria prima insatisfatória, que possivelmente apresentava alta contaminação por microrganismos psicrófilos, que são produtores de proteases termoestáveis, ou seja, mesmo com a eliminação das formas vegetativas, essas enzimas permanecem nos produtos finais comprometendo a qualidade e a vida de prateleira dos derivados (BEHMER, 1999; OLIVEIRA & TIMM, 2006). Importante ressaltar os resultados observados em duas amostras de leite UAT, nas quais ocorreu formação de coágulo sendo que o tratamento aplicado elimina 100% das formas vegetativas, reforçando a hipótese de ação enzimática proteolítica e/ou recontaminação.

Bankuti et al. (2015), avaliando nove amostras de leite cru refrigerado, verificaram que três apresentaram coágulo digerido. Esses autores ressaltam que esse tipo de coágulo indica o domínio de proteolíticos microbianos, lácticos e coliformes, que podem causar gosto desagradável no leite e manteiga. Portz et al. (2014), analisando 10 amostras de leite pasteurizado coletados no DF, verificaram que todas as amostras apresentaram formação de coágulos. Esses autores verificaram que no total, houve predominância de coágulos esfacelados (80%) seguido do caseoso (2%). Os mesmos autores na análise de 10 amostras de leite UAT verificaram que em nenhuma amostra ocorreu formação de coágulos.

CONCLUSÕES

A frequência de amostras de leites, cru refrigerado e pasteurizado, em desacordo com os padrões estabelecidos indica falhas na produção e nos controles de qualidade das indústrias de laticínios do Distrito Federal e Entorno, assim como dos órgãos de fiscalização, inclusive em relação ao comércio de leite cru informal.

As alterações observadas em amostras de leites UAT, que geralmente são produzidos em laticínios de grande porte, também indicam falhas graves incompatíveis com a segurança que o produto deveria oferecer aos consumidores.

A ocorrência de fraudes por adição de água e de substâncias químicas reconstituintes, neutralizantes e antibióticos reforça a necessidade de maior rigor nas fiscalizações e nos controles de qualidade, a fim de garantir inocuidade do produto e a saúde dos consumidores.

REFERÊNCIAS

AGNESE, A. P.; NASCIMENTO, A. M. D. D.; VEIGA, F. H., PEREIRA, B. M.; & OLIVEIRA, V. M. D. Avaliação físico-química do leite cru comercializado informalmente no Município de Seropédica – RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n. 94. p. 58-61, 2002.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe Técnico N° 53/2013 ANVISA – **Esclarecimentos sobre os riscos à saúde das substâncias ureia e formol e sua adição ao leite**. Disponível em < http://portal.anvisa.gov.br/resultado-debusca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=391052&_101_type=document > Acesso em: 03/01/2017.

BANKUTI, F. I. et al. Identificação de micro-organismos contaminantes e susceptibilidade a agentes antimicrobianos em amostras de leite de tanques de expansão. **Arquivos de Pesquisa Animal**, v. 1, n. 1, p. 12-17, 2015.

BECKER, T. A.; NEGRELO, I. F.; RACOULTE, F.; & DRUNKLER, D. A. Avaliação da qualidade sanitária de leite integral informal, pasteurizado, UHT e em pó comercializados na cidade de Medianeira e Serranópolis do Iguaçu-Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 707-716, 2010.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**: produção, industrialização e análise. Nobel, 13^a ed., São Paulo, 1999. p. 320.

BELOTI, V.; MANTOVANI, F. D.; SILVA, M. R.; TAMANINI, R.; GARCIA, D. T.; SILVA, F. A. Alterações do ponto de congelamento do leite por adição do estabilizante citrato de sódio. **Anais do IV Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite**, Florianópolis, Santa Catarina, 2010.

BRASIL, 1952. Decreto 30.691/1952. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Publicado no Diário Oficial da União de 07/07/1952, Seção 1, Página 10.785.

BRASIL, 1997. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Leite U.H.T (U.A.T)**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 08 set. 1997. Seção 1, p. 19700.

BRASIL, 1998. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria no 166, de 5 de maio de 1998. **Criar Grupo de Trabalho para analisar e propor programa e medidas visando ao aumento da competitividade e à modernização do setor produtivo de leite e derivados no Brasil**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, Seção 1, 6 maio 1998.

BRASIL, 1999. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa No 42. **Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel – PCRM, Leite – PCRL e Pescado – PCRP**. Diário

Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, Seção 1, p. 213, dez. 1999.

BRASIL, 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 62 de 29 de dezembro de 2011. **Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel.** Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, Seção 1, n. 251, p.6, 30 dez. 2011.

BRASIL, 2013. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Determinação de glicídios redutores em lactose pelo Método de Lane-Eynon em Leite. Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/RS Laboratório de Produtos de Origem Animal Método de Ensaio – MET** Código: MET POA/19/01/01 Página 1 de 7 Emissão: 22/04/2013. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%2019%2001%20Acucares%20em%20leite.pdf > Acesso em: 26/12/2016

BRASIL, 2013a. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/animal/noticias/2013/05/operacao-investiga-fraude-em-leite-transportado-no-rs> >. Acesso em: 26/12/2016

BRANDÃO, J. B.; BREITENBACH, R.; DIAS, V. S.; & SILVA, B. Leite clandestino: a informalidade orientada pela demanda–Um diagnóstico da produção e comercialização em Itaqui/Rio Grande do Sul. **Extensão Rural**, v. 22, n. 2, p. 113-131, 2015.

CALDEIRA, L. A.; ROCHA JÊNIO, V. R.; FONSECA, C. M.; MELO, L. M.; CRUZ, A. G.; & OLIVEIRA, L. D. S. Caracterização do leite comercializado em Janaúba–MG Characterization of milk commercialized in Janaúba–MG. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 2, p. 191-196, 2010.

CORRÊA, F. T.; CAMPOS, S. A. S.; PINTO, S. M. Presença de antibióticos, conservantes e reconstituintes em leite UHT e pasteurizado. *Demetra: Food, Nutrition & Health/Alimentação, Nutrição & Saúde*, v. 10, n. 2, p. 289 -98, 2015.

CARDOSO, G. S. P. **Avaliação físico-química e microbiológica do leite cru refrigerado e soros dos queijos minas frescal e mussarela estocados sob diferentes temperaturas**. 2014. 125 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

COSTA, M. A et al. Refrigerated milk's adulteration/Fraude em leite cru refrigerado. *Veterinaria e Zootecnia*, v. 20, n. 2, p. 42-44, 2013.

CORREIO BRAZILIENSE. Brasília, 2009. Um outro mapa para o DF. Disponível em: http://www.correio braziliense.com.br/app/noticia/cidades/2009/10/19/interna_cidad_esdf,149130/um-outro-mapa-para-o-df.shtml >. Acesso em: 07/03/2017.

FIRMINO, F. C.; TALMA, S. V.; MARTINS, M. L.; DE OLIVEIRA LEITE, M.; & DE OLIVEIRA MARTINS, A. D. Detecção de fraudes em leite cru dos tanques de expansão da região de Rio Pomba, Minas Gerais. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 65, n. 376, p. 5-11, 2010.

FREITAS FILHO, J. R.; DE SOUZA FILHO, J. S.; GONÇALVES, T. M.; DE SOUZA, J. J. F.; DA SILVA, A. H. I.; DE OLIVEIRA, H. B.; BEZERRA, J. D. C. Caracterização físico-química e microbiológica do leite '*in natura*' comercializado informalmente no município de Garanhuns-PE. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 3, n. 2, 2009.

FREITAS FILHO, J. R.; LIMA, V. A. M.; DA SILVA LIMA, R.; DA SILVA, M. S. J.; DE MELO, C. A. S.; DE OLIVEIRA, D. S.; & DE FREITAS NETO, J. R. Ensinando sobre adulteração do leite: relato de uma experiência utilizando materiais alternativos. *Extensio: Revista Eletrônica de Extensão*, v. 8, n. 11, p. 116-130, 2011.

GONZAGA, N.; DANIEL, G. C.; MAREZE, J.; MARIOTO, L. R. M.; TAMANINI, R.; & BELOTI, V. Evolução da qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 36, n. 1, p. 47-54, 2015.

KARTHEEK, M.; A.; SMITH, A.; KOTTAI MUTHU, A.; MANAVALAN, R. Determination of Adulterants in food: A Review. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.3, n.2, p. 629-636, 2011.

KOBLITZ, M.G.B. **Matérias primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

LÜCK, H. The use of hydrogen peroxide in milk and dairy products. In: WHO/FAO. **Milk Hygiene**. 1962. p. 449-455.

MAGALHÃES, M. V. F.; DE CARVALHO SANTOS, L. G.; DE MESQUITA PEREIRA, R.; & DE FREITAS KOBAYASHI, P. Análise físico-química e microbiológica do leite pasteurizado integral tipo C comercializado em Aracaju-SE. **Scientia Plena**, v. 11, n. 4, 2015.

MAREZE, J.; MARIOTO, L. R. M.; GONZAGA, N.; DANIEL, G. C.; TAMANINI, R.; & BELOTI, V. Detecção de adulterações do leite pasteurizado por meio de provas oficiais. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 36, n. 1Supl, p. 283-290, 2015.

MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JUNIOR, W.; & FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira Agrociência, Pelotas**, v.13, n.1, p.91-97, jan-mar, 2007.

MENDES, C. G.; SAKAMOTO, S. M.; SILVA, J. B. A.; JÁCOME, C. G. M.; LEITE, A. I. Análises físico-químicas e pesquisa de fraude no leite informal comercializado no município de Mossoró, RN **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia,

v. 11, n. 2, p. 349-356, abr./jun. 2010.

MENDES, E. A. S.; PIRES, C. V.; DA SILVA, A. M.; & SILVA, L. S. Qualidade do leite cru refrigerado em função do tipo de ordenha coletado de produtores do município de Paracatu-MG. **Zootecnia**, v. 1, n. 2, p. 63-71, 2014.

MENDONÇA, M. B. O. C.; CURIAKI, Y.; JULIANI, G. L.; DE SANTANA, E. H. W.; & ALEGRO, L. C. A. Qualidade Físico-Química de Amostras de Leite Cru Comercializadas Informalmente no Norte do Paraná. **Journal of Health Sciences**, v. 11, n. 4, 2015.

MOORE, J. C.; SPINK, J.; LIPP, M. Development and Application of a Database of Food Ingredient Fraud and Economically Motivated Adulteration from 1980 to 2010. **Journal of Food Science**, v.77, n.4, p. 118-126, 2012.

MOLINA, C. H. A.; CENTENARO, G. S.; & FURLAN, V. J. M. Qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Itaquí-RS. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 3, n. 4, p. 106-113, 2015.

MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: DURR, J.W., CARVALHO, M.P., SANTOS, M.V. **O Compromisso com a Qualidade do Leite**. Passo Fundo: Editora UPF, 2004, v.1, p. 11-37.

MONTANHINI M.M.T. & HEIN K.K. 2013. Qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Piraí do Sul, Estado do Paraná, Brasil. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes** 68:382-393.

MOTTA R.G.; SILVA A.V.; GIUFFRIDA R.; SIQUEIRA A.K.; PAES A.C.; MOTTA I.G.; LISTONI F.J.P.; & RIBEIRO M.G. Indicadores de qualidade e composição de leite informal comercializado na região Sudeste do Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p. 417-423, 2015.

MONTEIRO, B. O., & COELHO, K. O. Tanques de expansão em propriedades leiteiras: condições de higiene e sanificação: detecção de fraudes em leite cru refrigerado. **Anais do Encontro de Pesquisa e Extensão do Câmpus São Luís de Montes Belos**, v. 1, n. 3, 2015.

OLIVEIRA, M. C. MPF/MG: operação ouro branco desarticula organizações criminosas que adulteravam leite. 2009. Disponível em < <http://www.mpf.mp.br/mg/sala-de-imprensa/noticias-mg/operacao-ouro-branco-desarticula-organizacoes-criminosas-que-adulteravam-leite-nos-municipios-mineiros-de-uberaba-e-passos> > Acesso em: 20/07/2016.

OLIVEIRA, D. S., & TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **CEP**, v. 96020, p. 380, 2006.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.da.; COSTA JÚNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. de. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. 234 p.

PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; DELBEM, A. C. B.; LARA, J. A. F. D.; & PERRI, S. H. V. Avaliação da qualidade de amostras de leite cru comercializado no município de Araçatuba e potenciais riscos decorrentes de seu consumo. **Higiene alimentar**, v. 15, n. 86, p. 31-8, 2001.

PORTZ, A. J.; COUTO, E. P.; & DE AGUIAR FERREIRA, M. Resíduos de antibióticos e qualidade microbiológica de leite cru e beneficiado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 4, p. 345-350, 2014.

PORTO, R. G. C. L.; LOPES, L. A. R.; & DA SILVA MOURA, J. C. Caracterização Físico-Química de Leite Pasteurizado Comercializado na Cidade de Teresina-PI. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 19, n. 1, 2015.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; BELOTI, V.; DA SILVA, L. C. C.; & TAMANINI, R. Avaliação da qualidade microbiológica e físicoquímica do leite cru refrigerado

produzido na região de Ivaiporã, Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 392, p. 5-11, 2013.

RIOS, E. A.; SILVA, L. C. C.; SILVA, F. A.; TAMANINI, R.; SEIXAS, F. N.; VERRI, G. L.; & BELOTI, V. Avaliação da sensibilidade da prova do amido em leite pasteurizado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2011.

ROBIM, MONALISA SANTUCHI. **Avaliação de diferentes marcas de leite UAT comercializadas no Estado do Rio de Janeiro e o efeito da fraude por aguagem na fabricação, composição e análise sensorial de iogurte**. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal -Universidade Federal Fluminense, Niterói, 98p, 2011.

ROCHA, P. C. A.; CUNHA, L. M. M.; MACHADO, A. V.; & DE OLIVEIRA COSTA, R. (2015). Análises Microbiológicas do Leite e Tipos de Adulterações. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, 5(1), 01-06.

ROSA-CAMPOS, A. A.; ROCHA, J. E. S.; BORGIO, L. A.; & MENDONÇA, M. A. Avaliação físico-química e pesquisa de fraudes em leite pasteurizado integral tipo 'c' produzido na região de Brasília, Distrito Federal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 379, p. 30-34, 2011.

ROSA, L. S.; GARBIN, C. M.; ZAMBONI, L.; & BONACINA, M. S. Avaliação da qualidade físico-química do leite ultra pasteurizado comercializado no município de Erechim-RS. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 3, n. 2, p. 99-107, 2015.

SANTOS, N. A. F.; LACERDA, L. M.; RIBEIRO, A. C.; LIMA, M. F. V.; GALVÃO, N. R.; VIEIRA, M. M.; & TENÓRIO, T. G. S. Avaliação da composição e qualidade físico-química do leite pasteurizado padronizado comercializado na cidade de São Luís, MA. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 1, p. 109-113, 2011.

SANTOS P.F & SANTOS C.B.G. Detecção de conservantes, neutralizantes e reconstituintes de densidade em leites UHT comercializados em Cuiabá-MT. In: **Anais da 62ª Reunião Anual da SBPC**; 25-30 jul 2010 Natal, RN. São Paulo: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência; 2010.

SANTIAGO, B. T.; PIRES, C. V.; COSTA SOBRINHO, P. S.; SANTOS, A. S.; & DOS SANTOS, J. M. Avaliação físico-química, microbiológica e contagem de células somáticas de leites pasteurizados comercializados no município de Diamantina (MG). **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v. 22, n. 1, p. 39-44, 2011.

SEIXAS, F. N.; FAGNANI, R.; RIOS, E. A.; PEREIRA, J. R.; TAMANINI, R.; & BELOTI, V. Comparação de métodos para detecção de fosfatase alcalina e peroxidase em leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 1, p. 17-24, 2014.

SILVA, P. H. C.; ROCHA, R. S.; COUTO, E. P.; & BARROS, M. A. F. Avaliação físico-química de diversos tipos de leites pasteurizados comercializados no Distrito Federal e adequação aos regulamentos técnicos. In: **Congresso brasileiro de medicina veterinária**, 35, 2008, Gramado, RS.

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. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 384, p. 55-60, 2012.

SILVA, L. C. C. D. **Capacidade de detecção de adulteração e suficiência das provas oficiais para assegurar a qualidade do leite pasteurizado**. Tese doutorado (Ciência Animal) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 96p, 2013.

SILVA, L. C. C. D.; TAMANINI, R.; PEREIRA, J. R.; RIOS, E. A.; RIBEIRO JUNIOR, J. C.; & BELOTI, V. Preservatives and neutralizing substances in milk: analytical sensitivity of official specific and nonspecific tests, microbial inhibition effect, and residue persistence in milk. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1613-1618, 2015.

SILVEIRA, M. L. R., & BERTAGNOLLI, S. M. M. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 2, n. 2, p. 75-80, 2014.

SOUZA, L. V.; DE SOUZA BATISTA, C.; MARTINS, M. L.; PINTO, C. M. F.; & DE OLIVEIRA PINTO, C. L. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de leite uht integral processado em indústrias do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 4, n. 2, 2014.

SOUZA, AHP.; KATSUDA, MK.; DIAS, LF. Avaliação físico-química do leite UHT e pasteurizado comercializado na cidade de Londrina – PR. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão, v.1, n.1, p.39-42, jan./jun., 2010.

SOUSA, F.; SILVA, L.; SOUSA, E.; SILVA, J.; FEITOSA, M. Análises físico-químicas e pesquisa de fraudes em leite pasteurizado tipo C. **Caderno Verde De Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.1, n.1, 2011.

SOVINSKI, Â. I.; CANO, F. G.; RAYMUNDO, N. K. L.; BARCELLOS, V. C.; & DOS SANTOS BERSOT, L. Situação da comercialização do leite cru informal e avaliação microbiológica e físico-química no município de Cafelândia, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 17, n. 3, p. 159-163, 2014.

TAMANINI, R.; RIOS, E. A.; PEREIRA, J. R.; CARLOS JR, J.; YAMADA, A. K.; & BELOTI, V. Acidity neutralizers, preservers, antibiotics and density restorative substances in UHT milk produced in south of Brazil/Neutralizantes da acidez, conservantes, antibioticos e reconstituintes da densidade em leite UHT produzidos no sul do Brasil. **Veterinaria e Zootecnia**, v. 20, n. 2, p. 149-151, 2013.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3ed. Santa Maria: UFSM, 2008. 206p.

WALSTRA, P. **Dairy technology: principles of milk properties and processes**.
New York: Marcel Dekker, 1999. 727p.

VILLA, F. B & PINTO, J. P. D. A. N. Qualidade físico-química, microbiológica e presença de resíduos de antimicrobianos, no leite in natura comercializado informalmente em Brotas, SP. **Higiene alimentar**, v. 22, n. 158, p. 98-103, 2008.

APÊNDICES

TABELA 3: Média e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos dos leites Ultra alta temperatura (UAT), paturizado e cru (n=100)

Parâmetros	Valores de referência	Leite UAT(Int, semi-desn. e desn)	Leite pasteurizado	Leite cru
Acidez, em g de ácido láctico/100 mL	14 a 18	15,33± 1,42	15,57±1,5 5	15,62±1,71
Índice crioscopico	- 0,530°H a - 0,550°H	-0,54±0,06	-0,53±0,01	-0,54±0,02
Gordura (g/100 g)	Int.:mín 3% Semi-desn:0,6 a 2,9 Desn: máx 0,5	Int.: 3,12±0,09 Semi-desn: 1,15±0,18 Desn: 0,09±0,11	3,16±0,38	5,73±2,72
SNG (g/100g):	Mínimo 8,4	10,11±0,54	9,58±0,56	9,05±0,69
Densidade	1,028 a 1,034	38,42±3,33	34,72±2,3 1	30,95±4,71
Proteína Total (g/100 g)	Mínimo de 2,9	3,99±0,43	3,58±0,47	3,07±0,24
Lactose	Mín: 4,3%	5,33±0,06	5,25±0,05	5,29±0,40

Legenda: UAT: Ultra alta temperatura; SNG: Sólidos não gordurosos; Int: integral; semidesn:semidesnatado; desn: desnatado

Quadro 2: Resultados das análises físico-químicas e enzimáticas dos leites Ultra Alta Temperatura (UAT), pasteurizado e cru (n=100)

Análises físico-químicas e enzimáticas												
LEITE UHT		Alizarol	Acidez (°D)	IC(°H)	Gordura (%)	SNG(%)	Densidade (°)	Ptn	Lactose	Perox.	Fosf.	Lact
	1	Estável	14	556	3,14	9,32	33,7	3,36	5,24	neg	neg	sfc
	2	Estável	16	556	3,11	9,57	34	3,57	5,25	neg	neg	sfc
	3	Estável	16	536	3,36	9,26	33,2	3,32	5,22	neg	neg	sfc
	4	Estável	14	547	3,19	9,54	34	3,55	5,25	neg	neg	sfc
	5	Estável	12	542	3,17	9,45	34	3,47	5,25	neg	neg	sfc
	6	Estável	16	554	3,09	9,25	33,4	3,30	5,23	neg	neg	sfc
	7	Estável	16	549	3,06	9,51	34	3,52	5,25	neg	neg	Gelatinoso
	8	Estável	16	542	3,08	9,55	34	3,55	5,26	neg	neg	sfc
	9	Estável	16	542	3,05	9,28	33,6	3,33	5,23	neg	neg	sfc
	10	Estável	14	548	3,03	9,45	34	3,47	5,25	neg	neg	sfc
	11	Estável	18	538	0	10,60	41,6	4,35	5,4	neg	neg	sfc
	12	Estável	14	557	0,25	10,70	42,1	4,49	5,41	neg	neg	sfc
	13	Estável(viol/SG)	16	544	0,08	10,50	41,3	4,30	5,4	neg	neg	sfc
	14	Estável	14	544	0,02	10,5	41,1	4,25	5,39	neg	neg	sfc
	15	Estável(viol/SG)	16	552	0,24	10,6	41,6	4,4	5,4	neg	neg	sfc
	16	Instável	14	552	0	10,40	41	4,22	5,39	neg	neg	Diger.
	17	Estável	16	547	0,01	10,7	42,1	4,45	5,41	neg	neg	sfc
	18	Estável(viol/SG)	18	547	0,28	10,5	41	4,27	5,39	neg	neg	sfc
	19	Estável	14	536	0	10,60	41,9	4,41	5,4	neg	neg	sfc
	20	Estável	14	551	0	10,90	42,8	4,59	5,42	neg	neg	sfc
	21	Estável	14	554	1,05	9,83	37,6	3,74	5,33	neg	neg	sfc
	22	Estável	16	544	1,12	10,30	39,3	4,10	5,36	neg	neg	sfc
	23	Estável	14	548	1,19	10,10	38,8	4,01	5,35	neg	neg	sfc
	24	Estável	16	548	0,90	10,40	39,9	4,18	5,37	neg	neg	sfc
25	Estável	14	551	1,26	10,20	38,8	4,04	5,34	neg	neg	sfc	

	26	Estável	16	554	1,22	10,30	39,5	4,16	5,35	neg	neg	sfc
	27	Estável	16	552	0,99	10,80	41,7	4,57	5,4	neg	neg	sfc
	28	Estável	16	556	1,39	10,50	40,2	4,33	5,37	neg	neg	sfc
	29	Estável	16	537	0,93	10,50	40,3	4,28	5,37	neg	neg	sfc
	30	Estável	18	559	1,42	10,30	39,3	4,17	5,35	neg	neg	sfc
LEITE PASTEURIZADO INTEGRAL	31	Estável	16	537	3,46	9,66	34	3,65	5,26	+	neg	Diger.
	32	Estável	14	529,5	2,52	10,1	37,3	3,98	5,31	+	neg	Diger.
	33	Estável	16	531	3,04	9,88	36	3,82	5,29	+	neg	Diger.
	34	Estável	18	534	3,15	9,45	34	3,47	5,25	+	neg	Diger.
	35	Estável	16	531	2,96	9,9	36,2	3,84	5,29	+	neg	Gelatinoso
	36	Estável	14	533	2,92	8,79	31,7	2,92	5,19	+	neg	Diger.
	37	Estável	16	534	3,18	9,63	34	3,62	5,26	+	neg	Diger.
	38	Estável	16	530	3,06	10,00	36,7	3,97	5,29	+	neg	Diger.
	39	Estável	16	522	3,78	9,79	35	3,77	5,25	+	neg	Diger.
	40	Estável	14	534	3,19	9,66	35	3,65	5,26	+	neg	Diger.
	41	Estável	16	534	3,14	9,61	34	3,6	5,26	+	neg	Diger.
	42	Estável	16	575,5	3,38	9,53	34,3	3,54	5,25	+	neg	Diger.
	43	Estável	16	529,5	2,91	9,8	35,8	3,02	5,27	+	neg	Diger.
	44	Estável	16	533	3,08	9,6	34	3,76	5,26	+	neg	Diger.
	45	Estável	14	528	2,31	9,99	37,1	3,59	5,31	+	neg	Diger.
	46	Estável	16	535	3,34	9,69	35	3,9	5,26	+	neg	Diger.
	47	Estável	16	533	2,97	9,38	34	3,67	5,26	+	neg	Diger.
	48	Estável	16	539	3,01	9,68	35,2	3,41	5,26	+	neg	Diger.
	49	Estável	10	445	2,32	7,72	28	3,66	5,11	+	neg	Diger.
	50	Instável	16	530	2,92	9,97	36,5	2,03	5,29	+	neg	Diger.
51	Estável	14	530	3,3	9,58	34	3,9	5,25	+	neg	Diger.	
52	Estável	16	538	3,3	9,7	35,1	3,58	5,26	+	neg	Diger.	
53	Estável	18	535	3,36	9,6	34	3,68	5,25	+	neg	Gelatinoso	
54	Estável	16	547	3,06	9,64	35	3,6	5,26	+	neg	Gelatinoso	
55	Estável	18	539	3,42	9,65	34	3,63	5,26	+	neg	Gelatinoso	

	56	Estável	16	531	3,48	7,46	25,9	3,64	5,05	+	neg	Gelatinoso
	57	Estável	16	523	3,11	9,39	34	1,85	5,24	+	neg	Diger.
	58	Estável	18	528	3,82	9,89	35,4	3,42	5,26	+	neg	Diger.
	59	Estável	14	529	3,03	9,29	33,6	3,85	5,23	+	neg	Diger.
	60	Estável	18	541	3,33	9,55	34	3,34	5,25	+	neg	Diger.
	61	Estável	14	538	3,01	9,05	32,7	3,56	5,21	neg	neg	Diger.
	62	Estável	16	534	3,2	9,3	33,5	3,35	5,23	+	neg	Gelatinoso
	63	Estável	16	528	3,73	9,87	35,4	3,83	5,27	+	neg	Gelatinoso
	64	Estável	14	530	3,21	10,1	36,7	4,0	5,3	+	neg	Gelatinoso
	65	Estável	14	533	3,33	10,1	36,5	3,99	5,29	+	neg	Gelatinoso
	66	Estável	14	530	2,27	10,4	38,7	4,21	5,34	+	neg	Diger.
	67	Estável	16	533	3,52	10	36,1	3,94	5,28	+	neg	Diger.
	68	Estável	16	537	4	10	35,7	3,96	5,27	+	neg	Diger.
LEITE CRU	69f	Estável	16	537	5,18	9,34	32,7	3,17	5,47	+	+	Gelatinoso
	70f	Estável	14	537	2,47	8,7	32,6	2,91	5,14	+	+	Gelatinoso
	71f	Estável	14	560	4,13	9,09	32,6	3,07	5,34	+	+	Gelatinoso
	72f	Estável	14	535	3,61	8,97	32,6	3,02	5,28	+	+	Gelatinoso
	73f	Estável	16	539	4,22	9,49	34	3,22	5,56	+	+	Gelatinoso
	74f	Estável	14	541	4,27	9,42	33,9	3,19	5,52	+	+	Gelatinoso
	75f	Estável	14	539	4,02	9,25	33,4	3,13	5,43	+	+	Diger.
	76f	Estável	18	546	2,6	9,95	37,5	3,38	5,82	+	+	Gelatinoso
	77f	Estável	18	541	4,46	9,37	33,5	3,18	5,49	+	+	Gelatinoso
	78f	Estável	16	541	4,17	9,49	34	3,22	5,56	+	+	Gelatinoso
	79f	Estável	16	535	5,69	9,01	30,9	3,06	5,27	+	+	Gelatinoso
	80f	Estável	16	530	6	8,93	30,3	3,03	5,23	+	+	Diger.
	81i	Estável	14	537	6,17	8,93	30,2	3,03	5,23	+	+	Diger.
	82i	Estável	20	534	3,9	9,26	33,5	3,13	5,44	+	+	Diger.
	83i	Estável	16	551	5,69	8,57	29,2	2,9	5,03	+	+	Diger.
84i	Estável	16	543	4,61	9,32	33,1	3,16	5,46	+	+	Diger.	
85i	Estável	16	478	4,75	8,52	29,8	2,87	5,01	+	+	Diger.	

86i	Estável	14	549	11,1	8,07	22,4	2,77	4,68	+	+	Gelatinoso
87i	Estável	18	547	3,96	9,65	35,1	3,28	5,64	+	+	Diger.
88i	Estável	14	555	5,2	9,05	31,5	3,07	5,3	+	+	Gelatinoso
89i	Estável	18	543	8,79	11,3	37,5	3,94	6,5	+	+	Gelatinoso
90i	Estável	14	543	14	7,35	17	2,55	4,23	+	+	Diger.
91i	Estável	18	540	7,82	8,66	27,6	2,95	5,06	+	+	Gelatinoso
92i	Estável	16	527	6,1	8,89	30,1	3,02	5,2	+	+	Gelatinoso
93i	Estável	16	541	10,8	8,0	22,4	2,74	4,65	+	+	Gelatinoso
94f	Estável	14	546	4,04	8,99	32,3	3,03	5,29	+	+	Diger.
95i	Instável	12	639	3,24	9,7	35,9	3,29	5,68	+	+	Diger.
96f	Estável	16	538	5,14	9,39	33	3,19	5,49	+	+	Gelatinoso
97f	Estável	16	542	11,1	8,14	22,7	2,8	4,72	+	+	Gelatinoso
98f	Estável	16	532	3,38	9,72	35,9	3,3	5,69	+	+	Gelatinoso
99f	Estável	14	538	8,62	8,55	26,5	2,92	4,98	+	+	Gelatinoso
100f	Estável	16	535	9,05	8,68	26,6	2,97	5,05	+	+	Gelatinoso

Legenda: f=formal; i=informal; Alizar = alizarol; Acid. = acidez Dornic; violet= violeta; sg= sem grumo; Gord = gordura; Dens = densidade; Ptn= proteína; Lacto = lactose; Perox = peroxidase; Fosf = fosfatase; Diger.=digerido; sfc=sem formação de coágulo; De 1 a 10= leite UAT integral; de 11 a 20= leite UAT desnatado; de 21 a 30= leite UAT semi-desnatado

Quadro 3: Resultado da pesquisa de substâncias em leites UAT, pasteurizado e cru

Pesquisa de substâncias													
LEITE UAT		Cloreto	H ₂ O ₂	Amido	Formol	Cloro	Hip.	AEA	NA	AE	Ant.	Sac.	
	1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LEITE PASTEURIZADO INTEGRAL	31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	35	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	38	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	39	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	43	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	53	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	55	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	58	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	59	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
LEITE CRU	69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	70	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	73	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	75	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	82	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

88	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
91	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
93	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: Hip = hipoclorito; AEA = álcool-éter-acetona; NA= neutralizantes da acidez; AE = álcool etílico; Ant. = antibiótico; Sac = sacarose

METODOLOGIAS UTILIZADAS

Análises físico-químicas e enzimáticas

Teste do alizarol: Pipetar 2mL de leite e 2mL de solução de alizarol em tubo de ensaio e homogeneizar cuidadosamente.

Leite estável: vermelho-castanho com coagulação fina

Leite instável, ácido: amarelo coagulado

Leite alcalinizado: violeta sem coagulação¹

Acidez (Método Dornic): Pipetar 10 mL de leite em tubo de ensaio; adicionar 5 gotas de fenolftaleína e completar a bureta (acidímetro) com Solução Dornic; titular até o ponto de viragem de cor (levemente róseo) da amostra. A cada 0,1mL de solução Dornic corresponderá a 1°D.

Normalidade: 14 a 18°D¹

Crioscopia: Distribuir nos tubos de 2,5 ml de leite (tubo próprio), colocar o tubo no crioscópio e aguardar para fazer a leitura, cada análise deverá ser realizada em triplicata.

Normalidade: índice crioscópico máximo = $-0,530^{\circ}\text{H} (\pm 0,01)^1$

Peroxidase: Pipetar 10 ml da amostra em tubo de ensaio, adicionar 2mL de guaiacol a 1%; adicionar 2 a 3 gotas com a pipeta Pasteur de água oxigenada 10 vols.

Resultado positivo: salmão

Resultado negativo: branco¹

Fosfatase (Kit comercial): Pipetar 0,1mL do substrato (n°1) e adicionar 0,1mL da solução tampão (n°2), adicionar 0,05mL da amostra de leite e homogeneizar e incubar em banho-maria a 37°C por 10 minutos, acrescentar 2mL do reagente de cor (n°3)

Resultado positivo: azul

Resultado negativo: amarelo³

Lactofermentação: Pipetar 10mL da amostra de leite em um tubo estéril com tampa e incubar em estufa a 30-35°C/24h.

Gelatinoso: o coágulo uniformemente gelatinoso

Esponjoso: com produção de gás e ácido; o soro é claro e mais ou menos abundante

Caseoso: coágulo que se contrai de um lado ou em todo o contorno; o soro claro

Floculoso: apresenta flocos de caseína, com bolhas gasosas

Líquido: com ausência de coágulo ou escassa coagulação¹

Ekomilk: Equipamento ultrassônico que avalia teores de gordura, sólidos não gordurosos, sólido total, densidade, proteínas, lactose. Preencher dois frascos para Ekomilk com as amostra de leite a 16°C, mergulhar o sugador e o pHmetro no frasco⁴

Pesquisa de conservantes e reconstituintes

Cloretos: Colocar 1mL Leite, 1 mL de nitrato de prata e 1mL cromato de potássio, e homogeneizar

Resultado positivo: amarelo

Resultado negativo: inalterado¹

Álcool etílico: Medir 100 mL da amostra e transferir para o kitazato, adicionar 10 mL de antiespumante e misturar bem, transferir para um tubo de ensaio 2 mL da solução sulfocrômica e mergulhar nessa solução a extremidade da pipeta de Pasteur acoplado ao kitazato por um tubo de silicone ou látex, de modo a formar um sistema fechado, aquecer a amostra contida no kitazato mantendo em fervura por 5 minutos.

Resultado positivo: verde

Resultado negativo: inalterada ou amarelada¹

Amido: Pipetar 5mL de leite e ferver o tubo de ensaio, resfriar com água quente e acrescentar 5 gotas de solução lugol.

Resultado positivo: azul

Resultado negativo: inalterado¹

Sacarose: Misturar em um tubo de ensaio 1mL de leite e 1mL de ácido clorídrico p.a., agitar até a dissolução e deixar em banho-maria por 2-3 minutos

Resultado positivo: escuro

Resultado negativo: inalterado²

Cloro e hipoclorito: Misturar 1mL de Iodeto de potássio 10% e 1mL amostra de Leite.

Resultado positivo: alaranjado

Resultado negativo: inalterado¹

Peróxido de hidrogênio: Colocar 5mL de leite cru e 0,5 mL de guaiacol 1%

Resultado positivo: salmão

Resultado negativo: inalterado²

Formol (metodologia oficial): Medir 100 mL de leite homogeneizado e passar para balão de destilação juntamente com 100 a 150 mL de água, acidificar com 2 mL de ácido fosfórico p.a. , destilar lentamente recolhendo cerca de 50 mL de destilado, em tubo de ensaio colocar 5 mL de solução de ácido cromotrópico a 0,5 % e 1 mL de destilado, colocar em banho-maria em temperatura de ebulição durante 15 minutos.

Resultado positivo: violeta

Resultado negativo: inalterado¹

Formol (metodologia Formfix®): Pipetar 25 mL do leite, acrescentar 1 mL do reagente e aguardar 3 minutos

Resultado positivo: rosa

Resultado negativo: roxo⁵

Alcalinos (prova do álcool-éter-acetona): Em um tubo de ensaio, pipetar 5mL de leite e 5mL da solução álcool-éter-acetona, e misturar.

Resultado positivo: ausência de grumos
Resultado negativo: presença de grumos⁶

Neutralizantes da acidez: Transferir 11 mL da amostra para béquer de 150 mL, adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração rósea persistente. Reacidificar com 1 mL de solução de ácido sulfúrico 0,025 N, aquecer até ebulição, esfriar rapidamente em banho de gelo e adicionar 2 mL de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 %.

Resultado positivo: coloração rósea, neutralização com carbonato de sódio (Na_2CO_3) ou com bicarbonato de sódio (NaHCO_3).

Referências

1. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68 , D.O.U. 14 de dezembro de 2006.
2. PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H.F.; COSTA JÚNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L. Físico-química do leite e derivados. 2^a. Edição, EPAMIG, Juiz de Fora, MG., 2001.
3. BioClin ® Quibasa
4. Ekomilk Total ®. EON Trading
5. FormiFix ® Macofren
6. SILVA, P.H.F.; PEREIRA, D.B.C. ; OLIVEIRA, L.L. ; COSTA JUNIOR, L.C.G. Físico-química do leite e derivados - métodos analíticos. 1. ed. Oficina de Impressão Gráfica e Editora Ltda., 1997. 190 p.