



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS GOVERNADOR VALADARES
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
CURSO DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

RONALDO AQUINO DUSI DE NAZARETH

**ANÁLISES DE ROTINA PARA CONTROLE DE QUALIDADE DO
LEITE E DETECÇÃO DE FRAUDES: LIMITAÇÕES E PROPOSTA
DE EQUAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DA QUALIDADE**

GOVERNADOR VALADARES - MG

2017

RONALDO AQUINO DUSI DE NAZARETH

**ANÁLISES DE ROTINA PARA CONTROLE DE QUALIDADE DO
LEITE E DETECÇÃO DE FRAUDES: LIMITAÇÕES E PROPOSTA
DE EQUAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DA QUALIDADE**

Monografia de conclusão de curso
ao Curso de graduação em
Farmácia do Instituto de Ciências
da Vida da Universidade Federal
de Juiz de Fora – campus
Governador Valadares como
requisito parcial à conclusão do
curso.

Orientador: Prof. Dr. Wesley W. G. Nascimento

Co-Orientador: Msc. Juliano Rocha Pereira

GOVERNADOR VALADARES - MG

2017

RONALDO AQUINO DUSI DE NAZARETH

**ANÁLISES DE ROTINA PARA CONTROLE DE QUALIDADE DO
LEITE E DETECÇÃO DE FRAUDES: LIMITAÇÕES E PROPOSTA
DE EQUAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DA QUALIDADE**

Monografia de conclusão de curso
ao Curso de graduação em
Farmácia do Instituto de Ciências
da Vida da Universidade Federal
de Juiz de Fora – campus
Governador Valadares como
requisito parcial à conclusão do
curso.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wesley W. G. Nascimento - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares

Prof. Dr^a. Michele Correa Bertoldi

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares

Prof. Dr. Jeferson Gomes da Silva

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me proporcionar o dom da vida e por sempre estar ao meu lado nos momentos mais difíceis, dando-me força para eu não desistir jamais e por me abençoar em todos os momentos.

À toda minha família, em especial aos meus pais, por todo apoio e carinho.

Ao meu orientador Wesley W. G. Nascimento, pela orientação, por todo o apoio e por confiar em mim no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu coorientador Juliano Rocha Pereira, pela paciência e dedicação a me ensinar toda a parte de análises do leite, desenvolvida neste trabalho.

Aos professores Jeferson Gomes da Silva e a Michele Correa Bertoldi, por terem participado da banca examinadora, contribuindo também para a minha formação acadêmica.

A todos os meus professores, em especial aos do departamento de farmácia, por toda contribuição na minha formação acadêmica.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constante.

RESUMO

O leite é muito importante para uma alimentação saudável, por ser fonte de energia e nutrientes e fazer parte do hábito alimentar do brasileiro. A cadeia agroindustrial do leite tem grande importância no suprimento de alimentos, geração de empregos e renda, pelo fato de estar presente diariamente na vida das pessoas. Com isso, é de grande importância métodos de análises para detecção de fraudes e garantia de qualidade do leite. A normatização do controle de qualidade do leite é feita pelas Instruções Normativas nº 62/2011 e nº 68/2006. Entretanto, os métodos atualmente utilizados neste controle possuem limitações como baixa portabilidade, alto custo e necessidade de profissionais treinados e muitas vezes não são conclusivas, devido a variações naturais que influenciam na composição do leite. Além disso, as técnicas são passíveis de serem burladas através de fraudes mistas, onde são adicionadas duas ou mais substâncias com concentrações pré-definidas. Diante disto, surge a necessidade de utilização simultânea de diversos métodos para ampliar a confiabilidade das análises. Entretanto, os resultados tendem a ficar confusos e desconexos, além de apresentar resultados apenas qualitativos. Por isso, a proposta deste trabalho é de uma equação para organizar estas informações e qualificar o leite de maneira quantitativa, a partir de um conceito de qualidade atribuído a partir de uma nota oriunda da equação. As amostras analisadas foram de leite cru refrigerado produzido no Estado de Minas Gerais. As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Química do Departamento de Farmácia, da Universidade Federal de Juiz de Fora em Governador Valadares. Foram avaliados a densidade, crioscopia, pH, acidez Dornic, teor de gordura e condutividade elétrica. As amostras analisadas foram de leite cru refrigerado produzido no Estado de Minas Gerais. Neste trabalho também foram preparadas fraudes propositais a fim de avaliar a eficiência da equação matemática proposta. Foi adicionado água, soro de queijo, sal, etanol, bicarbonato de sódio e peróxido de hidrogênio. Os resultados encontrados demonstraram que a equação proposta é capaz de qualificar o leite de forma quantitativa e que as notas obtidas nos leites analisados ficaram de acordo com as condições preparadas nas amostras.

Termos para Indexação: leite cru; qualidade; fraudes; análises físico-químicas.

ABSTRACT

Milk is very important for a healthy diet, because it is a source of energy and nutrients and is part of the Brazilian's eating habits. The agroindustrial chain of milk has great importance in food supply, job creation and income, because it is present daily in people's lives. Thus, methods of analysis for fraud detection and quality assurance of milk are of great importance. The standardization of milk is done by the Normative Instructions nº 62/2011 and nº 68/2006. However, the methods currently used in this control have limitations such as low portability, high cost and need of trained professionals and are often not conclusive due to natural milk variations. In addition, the techniques can be mocked through mixed fraud, where two or more substances with pre-defined concentrations are added in order to mask the methods of analysis. In view of this, there is a need for the simultaneous use of several methods to increase the reliability of the analyzes. However, the results tend to be confused and unrelated, as well as presenting only qualitative results. Therefore, the proposal of this work is an equation to organize this information and qualify the milk in a quantitative way, based on a quality concept attributed from a note coming from the equation. The analyzed samples were of refrigerated raw milk produced in the State of Minas Gerais. The physicochemical analyzes were performed at the Multi-user Chemistry Laboratory of the Department of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, in Governador Valadares. Density, cryoscopy, pH, Dornic acidity, fat content and electrical conductivity were measured. The analyzed samples were of refrigerated raw milk produced in the State of Minas Gerais. In this work, deliberate frauds were also prepared in order to evaluate the efficiency of the proposed mathematical equation. Water, cheese whey, salt, ethanol, sodium bicarbonate and hydrogen peroxide were added. The results showed that the proposed equation is able to qualify the milk in a quantitative way and that the grades obtained in the milks analyzed were in agreement with the conditions prepared in the samples.

Index terms: raw milk; quality; frauds; physicochemical analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Leite obtido em comércio local	16
FIGURA 2	Leite obtido em um laticínio local	17
FIGURA 3	Crioscópio Microlak	19
FIGURA 4	Termolactodensímetro	19
FIGURA 5	Acidímetro Dornic	20
FIGURA 6	Phametro Mettler Toledo Seven Compact	20
FIGURA 7	Condutivímetro Mettler Toledo Seven Compact	21
FIGURA 8	Analísadores de leite ultrassônicos – Master Mini da empresa Akso	21
FIGURA 9	Resultados das análises de densidade para leite cru refrigerado	23
FIGURA 10	Resultados das análises de crioscopia para leite cru refrigerado	24
FIGURA 11	Resultados das análises de pH para leite cru refrigerado	25
FIGURA 12	Resultados das análises de acidez Dornic para leite cru refrigerado	26
FIGURA 13	Resultados das análises de condutividade elétrica para leite cru refrigerado	27
FIGURA 14	Resultados das análises de teor de gordura para leite cru refrigerado	28
FIGURA 15	Resultados das análises de densidade para leite adulterado	30
FIGURA 16	Resultados das análises de crioscopia para leite adulterado	30
FIGURA 17	Resultados das análises de pH para leite adulterado	31
FIGURA 18	Resultados das análises de acidez Dornic para leite adulterado	31
FIGURA 19	Resultados das análises de condutividade elétrica para leite adulterado	31
FIGURA 20	Resultados das análises de teor de gordura para leite adulterado	32
FIGURA 21	Resultados da equação, obtidas das análises de leite cru refrigerado	41
FIGURA 22	Resultados da equação, obtidas das análises de leite propositalmente adulterado	42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Composição média do leite de vaca	03
TABELA 2	Parâmetros físico-químicos relacionados à qualidade do leite	05
TABELA 3	Diversas fraudes no leite e suas consequências nas metodologias	07
TABELA 4	Variação de pH e acidez Dornic e a interpretação dos resultados no leite	09
TABELA 5	Alguns tipos de alimentos e suas influências no ponto de congelamento do leite	13
TABELA 6	Identificação das amostras e respectivas concentrações	18
TABELA 7	Análises dos leites propositalmente fraudados	29

LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1	Equação geral proposta para avaliar quantitativamente a qualidade do leite	39
EQUAÇÃO 2	Equação para obter uma nota que representará a qualidade do leite neste trabalho	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS	3
2.1	COMPOSIÇÃO DO LEITE	3
2.2	CLASSIFICAÇÃO	4
2.3	QUALIDADE	5
2.4	FRAUDES	7
2.5	MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS DE ANÁLISE DO LEITE	8
2.5.1	CRIOSCOPIA	8
2.5.2	ACIDEZ	9
2.5.3	DENSIDADE	10
2.5.4	CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	11
2.5.5	MÉTODO ULTRASSÔNICO	11
2.6	LIMITAÇÕES DOS MÉTODOS DE ANÁLISE PROPOSTOS	12
3	OBJETIVOS	15
3.1	OBJETIVOS GERAIS	15
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
4	MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1	CRIOSCOPIA	18
4.2	DENSIDADE	19
4.3	ACIDEZ DORNIC	20
4.4	DETERMINAÇÃO DE pH	20
4.5	CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	21
4.6	MÉTODO ULTRASSÔNICO	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1	ANÁLISES DE LEITE CRU REFRIGERADO	22
5.1.1	DENSIDADE	22
5.1.2	CRIOSCOPIA	23
5.1.3	PH	25
5.1.4	ACIDEZ DORNIC	26
5.1.5	CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	27
5.1.6	MÉTODO ULTRASSÔNICO (TEOR DE GORDURA)	28
5.2	ANÁLISES DE LEITES PROPOSITAMENTE FRAUDADOS	29
5.2.1	AMOSTRA A	32
5.2.2	AMOSTRA B	33

5.2.3	AMOSTRA C.....	34
5.2.4	AMOSTRA D	34
5.2.5	AMOSTRA E.....	35
5.2.6	AMOSTRA F.....	36
5.2.7	AMOSTRA G	36
5.2.8	AMOSTRA H	37
5.2.9	AMOSTRA I.....	37
5.2.10	AMOSTRA J.....	38
5.3	EQUAÇÃO MATEMÁTICA PARA QUALIDADE	38
5.3.1	RESULTADOS DA EQUAÇÃO OBTIDOS NAS ANÁLISES DOS LEITES CRU REFRIGERADOS	41
5.3.2	RESULTADOS DA EQUAÇÃO OBTIDOS DE ANÁLISES DAS AMOSTRAS PREPARADAS COM LEITES ADULTERADOS	42
6	CONCLUSÃO	44
7	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

Conforme a Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas leiteiras sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda.

O leite é muito importante na história da humanidade, e já na antiguidade, o homem observou sua importância pelo fato de ser um alimento fundamental para dieta humana como fonte nutricional e também na produção de derivados como queijo e manteiga (BIBLIA SAGRADA, 2003). É considerado um dos mais completos alimentos *in natura* por ser fonte de energia, proteína, gordura, lactose e outros constituintes essenciais. É também, o principal alimento fonte do mineral cálcio, que é fundamental para a integridade dos ossos (TOMBINI et al., 2012). A qualidade da sua composição é determinada pela presença destes elementos, que, por sua vez, pode ser influenciada pela alimentação, manejo, raça do animal, genética, período de lactação e até por situações de estresse (SOUZA et al., 1995).

A cadeia agroindustrial do leite é reconhecida como uma das mais importantes do agronegócio nacional sob a ótica social e econômica, estando presente em todo o território nacional com papel relevante no suprimento de alimentos, geração de empregos e renda para a população. (NETO et al., 2013).

O Brasil vem apresentando aumento gradativo na produção leiteira. Entre 2005 a 2014, a produção cresceu 43%, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015). O país é um dos que possui a maior produção de leite bovino do mundo, ocupando a 5ª posição em 2013, com 34,3 bilhões de litros, conforme dados da Food And Agriculture Organization Of The United Nations (FAO, 2015). A Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2015) reafirma que as exportações aumentaram a uma taxa média de 1,3% a.a. entre 2010 e 2014, e as importações recuaram 2% a.a. no mesmo período. Minas Gerais é o estado que mais produziu leite cru, com uma produção de 1,4 milhões de litros em 2013 (IBGE, 2015)

O leite está sujeito a muitas alterações físico-químicas e microbiológicas que ocorrem em toda cadeia produtiva, ou seja, durante sua produção, beneficiamento, industrialização e comercialização. A manutenção da qualidade do leite e derivados em suas características sensoriais, nutritivas e principalmente em segurança alimentar, são

requisitos cada vez mais exigidos pelos consumidores (FONSECA & SANTOS, 2007). O leite pode sofrer muitas adulterações e fraudes, que alteraram a sua qualidade, e muitas vezes são realizadas com o objetivo de aumentar o lucro. Por isso é de extrema importância controlar a qualidade do leite e detectar adulterações e fraudes (TRONCO, 2008).

O uso das metodologias de referência e o desenvolvimento de novas metodologias são importantes para monitorar com mais facilidade, exatidão e rapidez o leite e também podem contribuir para controlar melhor os padrões de qualidade do produto (ALVES, 2015). Com isso, são necessários métodos que garantam a qualidade do produto. Contudo, as metodologias possuem limitações, especialmente em relação a fraudes mistas. Algumas delas possuem alto custo, baixa portabilidade, necessidade de constantes calibrações e profissionais treinados para a execução. Ainda assim, muitas não são isentas de fraudes, especialmente por adulterações mistas de duas ou mais substâncias. Uma alternativa é a utilização simultânea de várias técnicas de análises que se baseiem em propriedades físicas distintas, ampliando assim a confiabilidade das análises. Entretanto, as técnicas medidas separadamente apresentam resultados confusos e desconexos, sendo medidas meramente qualitativas.

Desta forma, este trabalho propõe uma equação para organizar estas informações e qualificar o leite de maneira quantitativa, avaliando a qualidade do leite, a partir de uma nota obtida através da equação matemática proposta. Assim, o trabalho contribui no sentido de ampliar a robustez das análises de qualidade e detecção de fraudes podendo a equação ser utilizada na rotina da indústria láctea.

2 CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS

2.1 COMPOSIÇÃO DO LEITE

O leite é um alimento essencial ao ser humano, por conter vários nutrientes, podendo-se destacar: proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas (em especial a vitamina A) e minerais como cálcio e fósforo; e é uma mistura homogênea e composta por mais de 100.000 tipos de diferentes de moléculas (PHILIPPI, 2006).

Do ponto de vista físico-químico, algumas substâncias estão em emulsão (gordura e substâncias associadas), algumas em suspensão (caseínas ligadas a sais minerais) e outras em dissolução verdadeira (lactose, vitaminas hidrossolúveis, proteínas do soro, sais, etc.) (PEREDA et al., 2005).

As gorduras, proteínas, carboidratos são sintetizados pela glândula mamária. Os minerais hidrossolúveis, enzimas e proteínas específicas são originários do plasma sanguíneo e alcançam a glândula mamária por transporte celular (ORDÓÑEZ et al, 2005).

Na Tabela 1, está disponível a composição média dos principais nutrientes do leite de vaca.

Tabela 1- Composição média do leite de vaca

Componentes principais	Composição média	Variações
Água	87,0%	84,0% a 90,0%
Gordura	4,0%	2,5% a 6,0%
Proteína	3,5%	2,8% a 4,5%
Lactose	4,8%	3,5% a 6,0%
Minerais	0,7%	<1%

Fonte: VALSECHI (2001).

A água é o elemento que se apresenta em maior proporção na composição química do leite (ORDÓÑEZ et al, 2005).

A gordura do leite é considerada o constituinte de maior valor e variação. É formada por glóbulos que se encontram em suspensão no líquido, dando-lhe aspecto emulsivo e opaco, sendo constituída por triglicerídeos. A matéria gorda flutua quando o leite está em repouso, constituindo-se em grande parte o que se chama de nata ou creme (FOSCHIERA, 2004). Gordura e a proteína são muito mais valorizadas economicamente que outros sólidos do leite.

As proteínas do leite podem apresentar variação significativa. São divididas em caseína (80%) e proteínas do soro (20%). A caseína é uma substância coloidal complexa, associada ao cálcio e ao fósforo, podendo ser coagulada. Já as proteínas do soro, permanecem solúveis no leite (TRONCO, 2008).

A lactose é o principal glicídio do leite. Apresenta papel importante na síntese do leite, pois é o principal fator osmótico, atraindo água para as células epiteliais mamárias. É o nutriente componente do leite que menos apresenta variação (GONZÁLEZ, 2001).

Os minerais do leite distribuem-se em dois compartimentos biológicos, a fase solúvel ou livre e a fase coloidal que está ligada à micela de caseína (ÓRDOÑEZ et al., 2005).

O conjunto de todos os componentes do leite, exceto a água, é definido como extrato seco total (sólidos totais). A percentagem deste é indispensável para se julgar a integridade de um leite (TRONCO, 2008).

A composição e proporção dos nutrientes do leite podem sofrer variações naturais. Estas variações podem acontecer de acordo com a espécie do animal, raça, a sua alimentação e a época da lactação do animal, assim como a estação do ano, a temperatura ambiental e umidade (PHILIPPI, 2006). Também são influenciados pelo estresse ou ação de drogas medicamentosas, fatores relacionados com doenças, como a contagem de células somáticas, a mastite e a saúde geral da vaca. Existem também variações com a manifestação do cio, a frequência e a técnica de ordenha (número, intervalo e processo), e até com o avanço genético no sentido de maior volume de produção na lactação (PRATES et al., 2000).

2.2 CLASSIFICAÇÃO

O leite pode ser classificado como leite cru refrigerado quando é produzido nas propriedades rurais, transportado em carro-tanque isotérmico e destinado à obtenção de leite processado ou derivados lácteos (BRASIL, 2011).

O leite pasteurizado é o leite cru processado, submetido ao tratamento térmico com aquecimento a temperatura de 72 a 75°C, por 15 a 20 segundos sendo conhecida como pasteurização rápida (BRASIL, 2011). E ainda por 63 a 65°C por 30 minutos, conhecida como pasteurização lenta (BRASIL, 2017). Logo em seguida, proceder refrigeração imediata à temperatura igual ou menor que 4°C.

O leite Longa Vida ou UHT (Ultra High Temperature) que significa temperatura ultra alta é outro tipo de leite processado submetido à temperatura entre 130 e 150° C, durante 2 a 4 segundos e imediatamente resfriado a temperatura inferior a 32° C (BRASIL, 2011).

Em relação ao teor de gordura, o leite processado também pode ser classificado como integral com teor mínimo de 3% de gordura, semidesnatado com teor entre 0,6% a 2,9% ou desnatado com teor máximo de 0,5% (BRASIL, 2011).

As inovações tecnológicas levaram a componentes como a gordura e a lactose serem removidos ou reduzidos em algumas variedades de leites, e outras variedades são enriquecidas com ferro, esteróis e vitamina D (FAO, 2015).

2.3 QUALIDADE

Um leite com qualidade deve ter as seguintes características: ser agradável (com preservação das suas propriedades, tais como, sabor, cor, odor, viscosidade); ser limpo (livre de contaminantes, micro-organismos e resíduos); ser fresco (composição correta e conservação adequada); ser seguro (não cause problemas à saúde) (LANGE et. al, 2005).

Para se determinar a qualidade do leite várias análises podem ser aplicadas. As principais análises são as físico-químicas, as microbiológicas e as sensoriais (TRONCO, 2008).

Quando o leite é de boa qualidade, este se encontra dentro dos padrões do Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do leite determinado pela Instrução Normativa de nº 62, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento de 29 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), que fixa padrões físico-químicos e microbiológicos.

Na Tabela 2, estão presentes os parâmetros físico-químicos relacionados à qualidade do leite.

Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos relacionados à qualidade do leite

Requisitos	Limites
Matéria Gorda, g/100g	Teor Original, com o mínimo de 3,0
Densidade relativa a 15°C g/ml	1,028 a 1,034
Acidez titulável, g ácido láctico/100g	0,14 a 0,18
Extrato seco desengordurado, g/100g	Min. 8,4
Índice Crioscópico	-0,530°H a -0,550°H
Proteínas, g/100g	Min. 2,9

Fonte: BRASIL (2011)

As principais alterações na qualidade físico-química de um leite são causadas por fraudes e adulterações e/ou variações naturais na composição do leite (BRASIL, 2008).

A contaminação microbiana altera a qualidade microbiológica do leite e pode ocorrer por duas vias principais: pela incorporação de microrganismos presentes no úbere e pelo contato do leite com os utensílios e equipamentos mal higienizados e ainda ordenadores sem os conhecimentos de boas práticas (CHAPAVAL, 1999).

Podem existir no leite microrganismos mesófilos não patogênicos que produzem ácido láctico e causam danos a caseína; os psicotróficos não patogênicos que causam danos a partir de suas enzimas proteolíticas e lipolíticas. E ainda, microrganismos patogênicos (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A qualidade microbiológica do leite pode ser alterada também por processos de mastites que podem modificar os componentes naturais do leite, como lactose, caseína e gordura, aumentando substâncias indesejadas como sais e enzimas proteolíticas além do aumento de contagem de células somáticas (CCS) (PHILPOT & NIKERSON, 2002).

O conceito de qualidade do leite também envolve rastreabilidade, responsabilidade social e questões ambientais, dentre outros fatores presentes na cadeia produtiva, de acordo com a Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal (EMATER-DF, 2008).

A responsabilidade pela fiscalização da qualidade do leite e seus derivados, desde a produção até sua finalização na indústria cabe ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Na comercialização do leite quem tem a responsabilidade de fiscalização é o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001).

A qualidade de um leite depende também de adoção conjunta de treinamentos, conscientização e capacitação dos produtores e funcionários (MENDONÇA, 2001).

2.4 FRAUDES

O leite pode sofrer fraudes ou adulterações ao longo de toda cadeia produtiva. Alguns exemplos de fraudes comuns relatadas por Filho et al (2009) são para aumento de volume, por exemplo, por adição de água ou soro de queijo; subtração de componentes; adição de substâncias reconstituintes, conservantes, neutralizantes ou outras substâncias não permitidas (elementos estranhos à sua composição); rotulado como categoria superior; estiver cru e for vendido como pasteurizado; e, for exposto ao consumo sem as devidas garantias de inviolabilidade.

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida (ABLV, 2007), as fraudes podem ser caracterizadas em dois tipos: a sanitária, que é a adição de substâncias estranhas ao leite com o intuito de mascarar deficiências do produto, podendo tais produtos causar mal à saúde; e a fraude econômica que é a adição de substâncias inócuas, que aumentam o volume de leite ou são reconstituintes, mas não causam mal à saúde.

Na Tabela 3 mostram-se exemplos de diversas fraudes no leite e suas consequências nas metodologias analíticas físico-químicas.

Tabela 3- Diversas fraudes no leite e suas consequências nas metodologias

Fraude	Densidade	Gordura	%Acidez	ESD	Crioscopia
Aguagem	Diminui	Diminui	Diminui	Diminui	Aumenta
Desnatamento ou adição de leite desnatado	Aumenta	Diminui	Em geral aumenta	Inalterada	Inalterada
Aguagem e desnatamento	Pode equilibrar	Diminui	Em geral diminui	Diminui	Aumenta
Adição de conservantes ou neutralizadores	Pode equilibrar	Inalterada	Normal ou diminui	Inalterada ou aumenta	Diminui
Aguagem e reconstituintes de densidade	Pode equilibrar	Diminui	Normal ou diminui	Diminui	Diminui

Legenda: EDS: Extrato seco desengordurado
Fonte: BREUX (2013).

A principal fraude no leite é a adição de água para aumentar seu volume. A água além de diminuir o valor nutritivo, também pode ser fonte de contaminação por

microrganismos patogênicos quando não for tratada adequadamente (LEMOS, 2011). Outra fraude nesse sentido é a adição de soro de queijo ao leite fluido. Fraudes com adição de substâncias neutralizantes como bicarbonatos e soda cáustica, têm como objetivo reverter à acidez desenvolvida por microrganismos mesófilos. Há fraudes também com adição de conservantes, que são substâncias que exercem ação sobre o desenvolvimento de microrganismos, retardando a multiplicação destes e prolongando a vida útil do leite (TRONCO, 2008).

Para se combater as fraudes é preciso: intensificar a fiscalização, aprimorar os sistemas de fiscalização e conscientizar produtores, transportadores, empresas e consumidores em relação à importância da qualidade do leite (MAFUD et al., 2007).

Os prejuízos das fraudes para as empresas são inúmeros, desde a diminuição da produtividade e encarecimento do produto final, até o enfraquecimento da marca, e ainda, o constante risco de multas por parte do Serviço de Inspeção, que penaliza empresas que estejam fora de legislação, punições estas que em alguns casos podem levar até o fechamento da empresa (NASCIMENTO et al., 2010).

2.5 MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS DE ANÁLISE DO LEITE

Para o controle da qualidade físico-química do leite e detecção de fraudes, algumas das principais técnicas são medida da acidez, crioscopia, densidade, teor de gordura e sólidos totais. A Instrução Normativa 62/2011 estabelece que os métodos de referência tradicionais poderão ser auxiliados por outros métodos alternativos, desde que sejam conhecidos os desvios e as correlações destes em relação aos respectivos métodos de referência.

Neste trabalho se dará ênfase a discussão dos métodos físico-químicos crioscopia, densidade, acidez Dornic, pH, condutividade e análise por ultrassom.

2.5.1 CRIOSCOPIA

O índice crioscópico é a medida da temperatura na qual o leite passa do estado líquido para o estado sólido e está relacionado a propriedades coligativas. Segundo Russel (1994), estas propriedades dependem da concentração de partículas do soluto (partículas dissolvidas) e não de sua natureza. Por isso, está associada somente às

substâncias solúveis no leite (TRONCO, 2008). A análise do índice crioscópico é realizada por aparelho chamado Crioscópio.

Se ocorrer um aumento de substâncias dissolvidas no leite, como no caso de acidificação (cada molécula de lactose produz quatro moléculas de ácido láctico) ou adição de substâncias reconstituíntes como sal, açúcares, álcool e ureia, a tendência é de se abaixar seu ponto de congelamento (PC). Se houver adição de água ao leite, o ponto de congelamento do mesmo tenderá a subir e se aproximar ao da água que é 0°C (TRONCO, 2008).

Por ser uma análise sensível e com pouca variabilidade, devido às propriedades coligativas, a crioscopia do leite é considerada uma prova de precisão, para se detectar fraude por adição de água ao leite (TRONCO, 2008).

2.5.2 ACIDEZ

A determinação da acidez é capaz de avaliar o equilíbrio ácido/base do leite. Um leite normal fresco é levemente ácido (acidez natural), a partir dos fosfatos inorgânicos, caseína, proteínas do soro e gás carbônico. Mas o leite pode também ter acidez adquirida, formada a partir da fermentação da lactose por microrganismos mesófilos (lactobacilos) que ocorrem em situações de falta de higiene e de refrigeração inadequada do leite (FONSECA & SANTOS, 2007).

A medida de acidez total titulável se refere à quantidade de ácido de uma amostra que reage com uma base de concentração conhecida, ou seja, uma titulação ácido-base. Pode-se também medir a acidez pelo pH, que mede a concentração de H⁺ do leite em solução aquosa. Quanto a maior concentração de H⁺, menor o valor de pH e maior a acidez do leite. A acidez pode ser medida quantitativamente pelos aparelhos acidímetro Dornic e phmetro (MAGRI, 2015). A Tabela 4 mostra a variação de pH, acidez Dornic e a interpretação dos resultados no leite.

Tabela 4 - Variação de pH e acidez Dornic e a interpretação dos resultados no leite

pH	Acidez Dornic °D	Interpretação dos resultados
6,6 – 6,8	14 – 18	Leite normal (fresco) (BRASIL, 2006)
≥ 6,9	< 14	Leite típico alcalino: leite de vaca com mastite, leite do final da lactação, leite de retenção, leite fraudado com água.
6,5 – 6,6	19 – 20	Leite ligeiramente ácido: leite do principio da lactação, leite com colostro, leite em inicio de processo de fermentação.
6,4	+/- 20	Leite que não resiste ao aquecimento a 110°C
6,3	22	Leite que não resiste ao aquecimento a 100°C
6,1	≥ 24	Leite que não resiste a pasteurização a 72°C
5,2	55 - 60	Leite que começa a flocular a temperatura ambiente

Fonte: (BRITO et al., 2005)

Para análise qualitativa da acidez do leite utiliza-se o teste de alizarol, que é uma mistura da substância alizarina com álcool, ou seja, indicador de acidez e avaliador da estabilidade térmica das caseínas. O álcool simula os efeitos que o tratamento térmico (aquecimento) provoca nas caseínas do leite e isto ocorre por efeito da elevada acidez ou do desequilíbrio salino (iônico). (CASTANHEIRA, 2010). O álcool tem a função de desidratar o leite ácido, pois reage com o ácido láctico provocando coagulação das caseínas. O leite instável não-ácido (LINA) resulta em precipitação positiva (formação de grumos), sem existir acidez do leite (ZANELA, 2004). Há então uma correlação direta entre a instabilidade térmica do leite LINA e o desequilíbrio entre os sais na forma solúvel e coloidal, ou seja, é o deslocamento do cálcio da fase coloidal para solúvel aumentando o cálcio iônico. O fosfato de cálcio e também o citrato de cálcio fazem parte da estrutura das micelas de caseína e são responsáveis pela estabilidade da fase coloidal (fase suspensão). (Valsechi, 2001).

2.5.3 DENSIDADE

A análise da densidade do leite é baseada na densidade relativa, ou seja, o quociente resultante da divisão da massa de um volume de leite por um igual de água, a certa temperatura. A determinação deste parâmetro serve para controlar, até determinados limites, fraudes no leite no que se refere à desnatação prévia e adição de reconstituintes (ambos aumentam densidade) e adição de água (que reduz a densidade).

O aparelho que mede a densidade é o Termolactodesímetro. A densidade depende da temperatura, por isso deve-se converter a medida para temperatura de 15°C.

Densidade é uma prova oficial e de informação útil e rápida, não é uma prova inteiramente decisiva, mas tem vantagem de levantar suspeitas de fraude na maioria dos casos. A desvantagem da medida de densidade em relação a crioscopia é que, por não estar relacionada a propriedades coligativas, avalia tanto substâncias solúveis como insolúveis (TRONCO, 2008).

O valor da densidade associada com a determinação da percentagem de gordura permite determinar, pelo Disco de Ackermann, o valor do extrato seco total (teor de sólidos totais) do leite (BRASIL, 2002).

2.5.4 CONDUCTIVIDADE ELÉTRICA

Condutividade elétrica (CE) é uma metodologia alternativa que pode ser utilizada para determinar fraudes no leite. Consiste na passagem de corrente elétrica na presença de íons no leite, particularmente na forma de sais, e é dependente da atividade desses íons. O aparelho para medir a CE é o Condutímetro, que mede a habilidade de uma solução em conduzir uma corrente elétrica entre dois eletrodos e é medido em Siemens por centímetro (S/cm). No leite, os ânions e cátions mais importantes são Na^+ , K^+ e Cl^- (ZANINELLI & TANGORRA, 2007). A condutividade elétrica é uma técnica simples, eficiente e de baixo custo. É usada principalmente para determinação do percentual de água, cloreto de sódio ou soda cáustica, contidos em amostras de leite. A acidez adquirida do leite gera o aumento do teor de ácido láctico e da medida de CE. A alcalinidade, atribuída à adição de neutralizantes de acidez, também leva ao aumento de CE. Água, álcool e gordura são maus condutores de eletricidade (RIBEIRO, 2014)

Em média, a condutividade do leite varia entre 4,61 mS/cm a 4,92 mS/cm (SILVA, 1997). Para este trabalho se escolheu como limites de condutividade de 4,25 mS/cm a 4,55 mS/cm devido a uma avaliação durante a execução do trabalho, com flutuações devido a variações naturais.

2.5.5 MÉTODO ULTRASSÔNICO

A análise por ultrassom no leite é uma metodologia alternativa, porém, cada vez mais utilizada nos laticínios. O funcionamento consiste em um tipo de onda mecânica,

cuja frequência está acima de 20 kHz. O ultrassom utiliza parâmetros ultrassônicos como velocidade de propagação, frequência acústica e coeficiente de atenuação (ALVES, 2015). Esse método pode ser útil para fornecer informações sobre a estrutura dos componentes físico-químicos do leite e a sua composição química, principalmente o teor de gordura (BUCKIN et al., 2003). Aplicações de ultrassom em leites utilizam sinais com baixa potência e alta frequência, (acima de 500 kHz), são utilizadas para caracterização de propriedades analíticas físico-químicas do alimento (MASON et al., 1996). A atenuação do ultrassom é um parâmetro que não sofre alterações significativas com a variação de temperatura, o que a torna muito importante para o método, apesar de não apresentar a mesma resolução que a velocidade de propagação, mas esta depende da temperatura (ALVES, 2015).

Esta metodologia é de fácil execução, rápida e possui um custo relativamente baixo. Outras vantagens são o fato das medidas serem efetuadas diretamente nas amostras de leite refrigerado e a acidez do leite não interferir na precisão da medida, além de não utilizar reagentes (LACTOSCAN, 2012).

O método por ultrassom permite quantificar o teor de algumas substâncias no leite, a citar gordura, proteína, sais, lactose e água. Contudo, apenas a medida de gordura é realizada de forma direta, as demais são obtidas indiretamente a partir de estimativas baseadas nos teores médios em leites.

2.6 LIMITAÇÕES DOS MÉTODOS DE ANÁLISE PROPOSTOS

Variações naturais que influenciam na composição do leite, problemas relacionados aos equipamentos e analisadores podem interferir nos resultados das metodologias mesmo não sendo fraudes (BRASIL, 2011).

A maioria das metodologias que vem sendo utilizadas para a detecção de fraudes em leite fluído necessita de aperfeiçoamento, e os limites de detecção devem ser aprimorados (FUENTE e JUARÉZ, 2005). A maior dificuldade encontrada pelo Serviço de Inspeção Federal ligado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é atualizar as técnicas de detecção de fraudes tão rapidamente quanto o surgimento de diferentes tipos de adulterações (AQUINO, 2013).

O índice crioscópico do leite possui limitações, pois podem ocorrer variações naturais que influenciam na composição do leite como modificações na dieta alimentar do rebanho leiteiro, período de lactação, estação do ano, entre outros fatores. (TRONCO, 2008). No leite fresco, as variações de composição de lactose, cloreto,

citrato e ácido láctico são responsáveis por aproximadamente 80% do total da depressão do ponto de congelamento causado por variações naturais, e somente a lactose contribui com mais de 50% desta redução da crioscopia (FONSECA et al., 1995). Segundo Montipó (1992), variações naturais na composição do leite podem ocorrer com uma alimentação com um conteúdo baixo em fibra bruta e em carboidratos digestíveis, por reduzir a porcentagem de lactose. Também a alimentação dos bovinos com grãos, dieta de feno ou pasto também influencia no ponto de congelamento. Grandes variações naturais no consumo de minerais também terá efeito sobre o ponto de congelamento. Na Tabela 5, alguns exemplos de tipos de alimentos e suas influências no ponto de congelamento do leite.

Tabela 5 - Alguns tipos de alimentos e suas influências no ponto de congelamento do leite

Tipo de Alimento	Ponto de Congelamento	
	Aproxima do zero	Afasta do zero
Ração + pouca ferragem		+
Sem ração, só pasto	+	
Base de grãos	+	
Estabulado + pasto	+	
Ração com fibra bruta		+
Ração com baixo teor de carboidratos	+	
Ração com alto teor de carboidratos		+
Ração com minerais		+
Ração com cloreto de sódio a 1%		+

Fonte: (MONTIPO, 1992)

Adicionalmente, Santos et al., (2008) explica que maiores pontos de congelamento são encontrados no verão, devido ao maior consumo de água pelos animais, devido às altas temperaturas. Além disso, cita também que o desequilíbrio de energia e proteína na dieta dos animais, pode contribuir para a redução da síntese de lactose e, em consequência disso, aumento da crioscopia do leite. Outras limitações deste método são que o crioscópio tem pouca portabilidade e um custo relativamente alto. E esta técnica também pode ser burlada, como ocorre com a fraude mista, ou seja, adicionados ao leite água e reconstituintes de crioscopia como álcool e cloreto de sódio. Mas este método tem vantagem de ter variação muito pequena e ser mais preciso em comparação com a técnica densidade. De acordo com Tronco (2008), a acidez do leite pode ser influenciada por variações naturais, que ocorrem com o estágio de lactação, mastite, atividade enzimática e pela composição do leite fresco. Este método apesar de

ser de baixo custo, produz resultados interpretativos que dependem da experiência do operador, não reproduzindo muitas vezes as mesmas conclusões quando são realizados por analistas distintos. Além disso, pode ser burlado com adições de substâncias que preservam ou mascaram a acidez, como bicarbonato de sódio ou hidróxido de sódio.

O teste de alizarol, que avalia a estabilidade térmica do leite é um fenômeno influenciado por diversos fatores como composição da micela de caseína, concentração de cálcio iônico, período de lactação e época do ano (NEGRI, 2002). Esse teste apresenta um alto índice de falso-positivo, pois é uma técnica interpretativa, isto é, informa que o leite está ácido mesmo que este não esteja.

A análise de densidade está diretamente ligada à presença de gordura, que é o constituinte do leite que mais sofre variação entre diferentes amostras de leite, e é um método pouco preciso e, portanto, pouco eficaz. A densidade pode ser alterada por variações naturais, como problemas nutricionais ou ainda problemas na saúde do animal, entre outros (BRASIL, 2002). Em alguns casos, a medição de densidade utiliza instrumentos analógicos, deixando a leitura não exata, e também é dependente do analisador, além destas medidas demorarem alguns minutos. Outra limitação da técnica é que pode ser burlada por fraudes mistas, como as quantidades equilibradas de água e reconstituintes de densidade (ZANINELLI & TANGORRA, 2007).

Em relação ao método de ultrassom, a maior limitação é o custo do equipamento. Mas os resultados das análises de leite provenientes de animais acometidos com mastite apresentam uma diminuição nos percentuais de gordura e de lactose e, em alguns casos, de proteína, alterando-se então os outros valores medidos no método (OLIVEIRA et al., 1999).

Na análise de condutividade, pode-se burlar a técnica com substâncias reconstituintes, como o cloreto de sódio. Variações naturais que influenciam na composição do leite, por causa de elevada quantidade de cloreto e lactose devido a casos de mastite subclínica no rebanho, pode provocar valores maiores de condutividade no leite (RIBEIRO, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Este trabalho tem como objetivo discutir as análises de rotina tradicionalmente utilizadas pela indústria para o controle da qualidade do leite e detecção de fraudes, avaliando as suas limitações e propondo uma equação matemática para quantificação desta qualidade através de um parâmetro numérico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Discutir alguns tipos comuns de fraudes relatadas na literatura;
- Discutir as limitações dos métodos tradicionais, especialmente diante de fraudes mistas;
- Propor uma equação para auxiliar na organização dos parâmetros físico-químicos medidos e qualificação da amostra;
- Testar a aplicação da equação proposta em amostras de leite cru e propositadamente adulteradas com substâncias previamente propostas, simulando classes de fraudes relatadas na literatura.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliadas 40 amostras de leite, sendo 30 de leite cru refrigerado e 10 de leite cru propositalmente fraudados com as seguintes substâncias/misturas: água; soro de queijo; água e cloreto de sódio; água e álcool; bicarbonato de sódio; e peróxido de hidrogênio. As concentrações das substâncias adicionadas foram preparadas utilizando uma balança de precisão analisando concentração % p/p.

O leite cru refrigerado foi obtido de um laticínio situado na cidade de Governador Valadares e algumas outras amostras foram adquiridas no mercado varejista da cidade. O laticínio que nos cedeu as amostras realiza coletas de leite em dezenas de produtores da região do Vale do Rio Doce. As amostras eram obtidas em dias aleatórios e oriundas de rotas alternadas de coleta, o que trouxe um caráter abrangente à pesquisa, visando o estudo de uma variabilidade de leites.

Das 30 amostras de leite cru refrigerado coletadas, as amostras adquiridas no comércio local foram identificadas de 1 a 6, enquanto as amostras de 7 a 30 foram as obtidas no laticínio. As 10 amostras de adulterações propositas foram nomeadas de A a J.

As amostras eram acondicionadas em recipientes plásticos cedidos pelos locais conforme demonstram as Figuras 7 e 8, e transportados em caixa térmica apropriada (adiabático) contendo gelo. As análises eram realizadas imediatamente após a chegada no laboratório.

Figura 1 - Leite obtido em comércio local



Fonte: próprio autor

Figura 2 - Leites obtidos em Indústria local

Fonte: próprio autor

As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário Química da Universidade Federal de Juiz de Fora, campus de Governador Valadares, durante o ano de 2017. Todas as análises foram realizadas de acordo com a Instrução Normativa 68 (BRASIL, 2006) e para a avaliação da fraude foram utilizados os requisitos previstos na Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011) e no Regulamento de Inspeção Industrial Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 2008).

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas: determinação da acidez titulável pelo acidímetro Dornic; determinação de pH pelo phametro; densidade relativa a 15°C pelo termolactodensímetro; índice criscópico (IC) pelo crioscópio digital; condutividade elétrica pelo condutivímetro; e análise do teor de gordura a partir da metodologia por ultrassom.

A técnica por ultrassom não é reconhecida como um método oficial de análise pelo MAPA, contudo, existem trabalhos na literatura, como o desenvolvido por Alves (2015), que demonstram que há uma boa correlação entre os resultados obtidos pelo método ultrassônico e os métodos oficiais de análise, especialmente no que se refere à quantificação do teor de gordura. Além disso, equipamentos que operam utilizando parâmetros ultrassônicos tem sido largamente utilizados. A cerca das medidas de condutividade elétrica e pH, as mesmas não são classificadas como métodos de referencia para análises de qualidade em leite, entretanto, podem ser usadas como análises complementares.

As amostras que foram preparadas com adição de substâncias estão reunidas na Tabela 6 com as devidas concentrações e foram identificadas por letras para facilitar a discussão.

Tabela 6 - Identificação das amostras e respectivas concentrações

Número de identificação	Amostra	Concentração da substância adicionada
De 1 a 30	30 amostras Leite cru genuíno	-
A	Leite cru / Água	10% p/p de Água
B	Leite cru / Soro de queijo	10% p/p de Soro
C	Leite ácido (20°D)	-
D	Leite cru fresco / Bicarbonato de Sódio (15°D)	0,6% p/p de Bicarbonato
E	Fraudes mistas: Leite cru / água / NaCl	10% p/p de Água; 0,1% p/p de NaCl
F	Fraudes mistas: Leite cru / água / NaCl	35% p/p de Água; 0,2% p/p de NaCl
G	Fraudes mistas: Leite cru / água / NaCl (Burlar a CE)	10% p/p de Água; 0,05% p/p de NaCl
H	Fraudes Mistas: Leite cru / Água / Álcool	10% p/p de Água; 0,15% p/p de Álcool
I	Leite ácido / Bicarbonato de sódio	0,2% p/p de Bicarbonato
J	Leite ácido / Peróxido de Hidrogênio	12,5% p/p de Peróxido de Hidrogênio

Fonte: próprio autor

As amostras E, F, G, H, I e J foram preparadas com adições de substâncias em concentrações pré-definidas capazes de burlar individualmente os métodos, exemplificando fraudes mistas relatadas na literatura. As amostras E e H foram pré-balanceadas de forma que conseguiriam burlar a crioscopia. As amostras F e G, burlam os métodos de densidade e condutividade elétrica, respectivamente, enquanto que as amostras I e J reduzem a acidez Dornic original do leite, por adições de bicarbonato de sódio e peróxido de hidrogênio, respectivamente.

Todas as amostras foram analisadas pelas técnicas físico-químicas citadas e os resultados foram introduzidos na equação proposta utilizando o programa Excel para realização dos cálculos.

A seguir apresenta-se uma breve descrição dos métodos, procedimentos e equipamentos utilizados para as análises.

4.1 CRIOSCOPIA

O aparelho usado para análise de crioscopia (ponto de congelamento - PC) é o Crioscópio eletrônico microprocessado, modelo Microlak, fonte de alimentação 110-220 volts. O método usado para a mensuração do Índice Crioscópico do leite está de acordo com o preconizado por Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) e consiste no congelamento da amostra até -3°C , através de aparelhos de crioscopia, seguido de cristalização imediata por vibração mecânica. Esse processo produz uma elevação rápida da temperatura da amostra, com liberação de calor de fusão, até que alcança um platô correspondente ao PC ou ponto de equilíbrio entre os estados sólido e líquido (TRONCO, 2008). A leitura da crioscopia é em Graus Hortvert.

O equipamento deve ser calibrado regularmente, pois a calibração fornece uma referência confiável ao circuito eletrônico do crioscópio, para que os resultados sejam válidos. Deve-se fazer a calibração de acordo com as especificações do fabricante, utilizando-se duas soluções padrão (IAL, 2008).

Figura 3 - Crioscópio Microlak



Fonte: próprio autor

4.2 DENSIDADE

Para medir a densidade do leite, cerca de 150 mL de leite é transferido para uma proveta de capacidade 250 ml e um termolactodensímetro graduado perfeitamente limpo e seco é inserido na proveta, deixando-o flutuar sem encostar na parede da proveta. Espera-se 5 minutos para que se atinja o equilíbrio térmico. A densidade aproximada e a temperatura da amostra são observadas através da leitura na cúspide do menisco do densímetro e uma posterior correção da densidade é feita para a temperatura de 15°C (BRASIL, 2006).

Figura 4 – Termolactodensímetro

Fonte: próprio autor

4.3 ACIDEZ DORNIC

Procedimento: transferir 10 mL da amostra para um béquer e adicionar 4 a 5 gotas da solução de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N ou com a solução Dornic, sendo que cada 0,1 mL de solução utilizada corresponde a 1°D ou 0,1g de ácido láctico/litro de leite, até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos.

Figura 5 - Acidímetro Dornic

Fonte: próprio autor

4.4 DETERMINAÇÃO DE pH

Determina-se o pH com auxílio de peagâmetro previamente calibrado. Os valores ideais de pH no leite apresentam-se normalmente numa faixa de variação entre 6,6 e 6,8. O aparelho deve ser previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,00; 7,00 e 10,00.

Figura 6 - Phametro Mettler Toledo Seven Compact

Fonte: próprio autor

4.5 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

Para determinação da condutividade elétrica do leite, foi utilizado o aparelho Dt830b (Gigasat, Fujian, China), conforme ilustra a figura 5 a seguir. As amostras são homogeneizadas e o eletrodo do equipamento é introduzido na amostra e, após alguns segundos, é realizada a leitura no visor digital, depois de estabilização dos valores. A leitura era realizada no modo automático de ajuste de temperatura (ATC) padronizando a temperatura de referência em 25°C. Isto é importante, pois a temperatura tem grande influência nos valores de condutividade elétrica.

Figura 7 - Condutímetro Mettler Toledo Seven Compact



Fonte: próprio autor

4.6 MÉTODO ULTRASSÔNICO

Para as análises de ultrassom utilizou-se o equipamento Master Mini, fabricado pela empresa Akso. Trata-se de um analisador de leite ultrassônico portátil para análises múltiplas e rápidas de: gordura, extrato seco total, extrato seco desengordurado, proteínas, lactose, água adicionada, ponto de congelamento, temperatura, sais minerais e densidade. O procedimento consiste em acoplar ao aparelho um Becker apropriado contendo uma alíquota de leite de 40 mL, previamente homogeneizada, da amostra que será analisada.

Figura 8 - Analisadores de leite ultrassônicos – Master Mini da empresa Akso.



Fonte: próprio autor

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados parâmetros físico-químicos em amostras de leite cru refrigerado e com adições propositalmente de substâncias adulterantes. Os resultados das análises foram comparados com os valores (mínimo e máximo) dos padrões estabelecidos pela IN 62 (BRASIL, 2011).

As análises de leite cru refrigerado tiveram os seguintes resultados: às medidas de acidez Dornic do leite mostrou que 57% das amostras estavam dentro dos valores preconizados pela legislação; nas medidas de pH, 83% apresentaram em concordância legal; quanto ao teor de gordura, houve concordância de 93% com o padrão mínimo; pelas análises de densidade, 100% apresentaram concordância com a Legislação; quanto à crioscopia, 13% apresentaram concordância; pelas medidas de condutividade elétrica, 83% estavam dentro dos limites esperados. As amostras adquiridas no comércio local (1 a 6) apresentaram maiores variações nos resultados dos métodos estudados quando comparados às amostras obtidas no laticínio (7 a 30), que apresentaram uma tendência mais estável.

Nas análises das amostras de leite propositalmente adulteradas/preparadas tiveram alterações em no mínimo duas das metodologias realizadas.

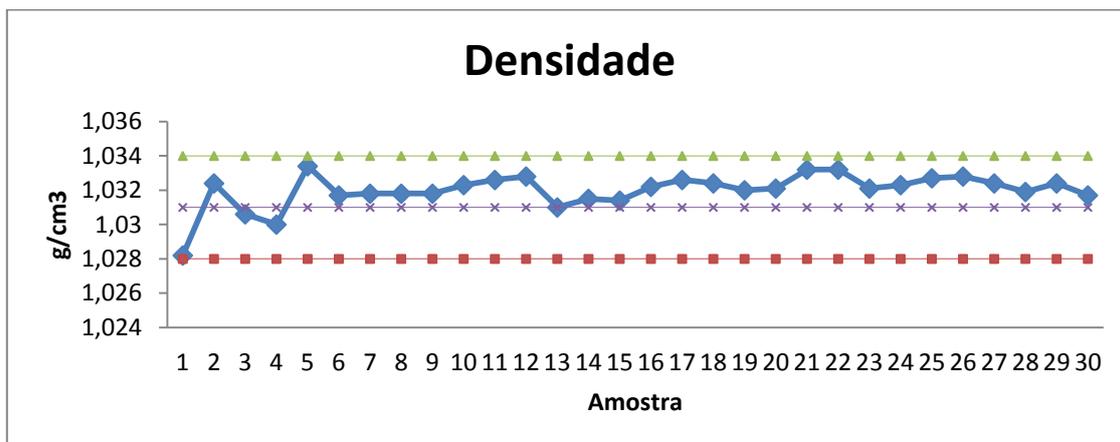
5.1 ANÁLISES DE LEITE CRU REFRIGERADO

Os resultados das análises foram organizados em gráficos e serão discutidas individualmente. Os resultados estão expressos nas Figuras de 9 a 14. Os limites mínimos e máximos estabelecidos pela IN62 (BRASIL, 2011) são apresentados nos gráficos pelas linhas em vermelho e verde, respectivamente, enquanto a média entre os limites está em violeta.

5.1.1 DENSIDADE

Os resultados das análises de densidade nas amostras de leite cru refrigerado são apresentados na Figura 9 a seguir.

Figura 9 – Resultado das análises de densidade para leite cru refrigerado



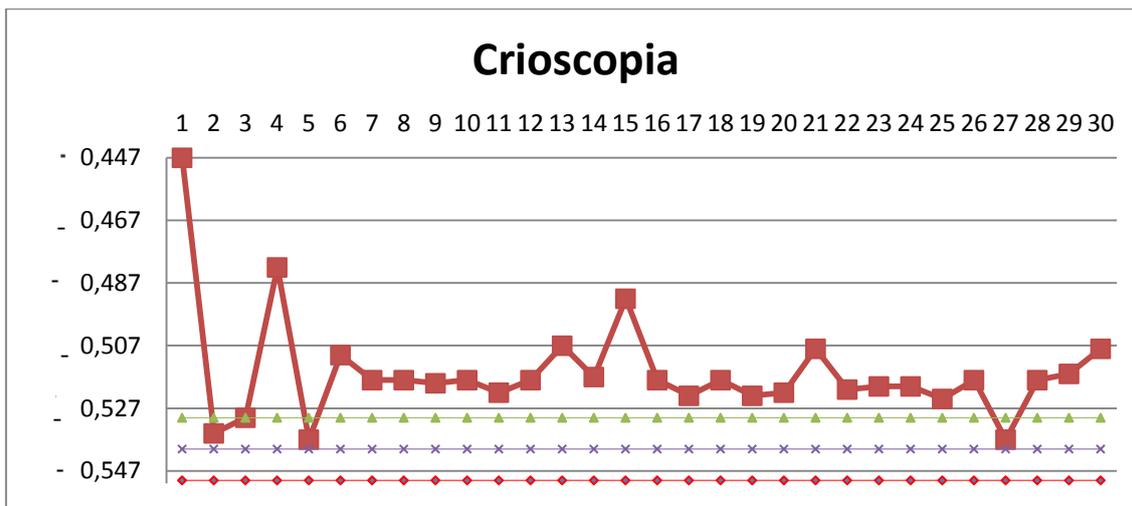
Fonte: próprio autor

Pode-se observar que todas as amostras apresentaram valores de densidade dentro dos limites aceitos pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011).

Estudos de densidade semelhantes foram relatados por Ferreira et al., (2003) em pesquisa realizada em Sobral/CE, e por Rezer (2010) no estado do Rio Grande do Sul. Os referidos trabalhos também apontaram valores de densidade de acordo com aos limites da Legislação (BRASIL, 2011). Já Santos & Fonseca (2007), na cidade de Mossoró – RN, os valores encontrados para densidade, apenas 37,5% estavam de acordo com a Legislação, devido a grande adição de água ao leite. Também, Carvalho et al. (2007) ao avaliarem a qualidade do leite em Viçosa-MG comprovaram adição de água e posteriormente alguma substância solúvel, como o cloreto de sódio, para corrigir a densidade. Por isso, valores de densidade ficaram dentro da Legislação.

5.1.2 CRIOSCOPIA

Os resultados das análises de crioscopia nas amostras de leite cru refrigerado são apresentados na Figura10 a seguir.

Figura 10 - Resultado das análises de crioscopia para leite cru refrigerado

Fonte: próprio autor

Nas análises de crioscopia, apenas quatro amostras estavam de acordo com a Legislação, sendo que todas as outras apresentaram suspeita de adição de água. Contudo 66% das amostras tiveram um valor de crioscopia próxima de $-0,520\text{ }^{\circ}\text{H}$ o que representa uma suposta adição em torno de 2,5% de água. Isto pode ter ocorrido por fatores relacionados características regionais, como alta temperatura, alimentação, consumo de água, raça dos animais e umidade, uma vez que os resultados, especialmente das amostras obtidas no laticínio seguiram uma tendência.

As amostras adquiridas no comércio local apresentaram maiores variações de índice crioscópico, o que pode indicar uma baixa qualidade das mesmas. A amostra 1 apresentou índice crioscópico de $-0,447\text{ }^{\circ}\text{H}$, ou seja, acima do limite permitido pela legislação. Esta amostra apresentou características comprometidas visualmente, como formação de grumos e coloração pouco esbranquiçada do leite, o que corrobora com o valor medido.

Resultados parecidos foram encontrados por Barbosa et al., (2007), que estudando as características físico-químicas do leite cru consumido no município de Queimadas - PB, verificaram no leite cru, a adição de 4,5% de água. Também segundo Santos & Fonseca (2007), na cidade de Mossoró – RN, os valores encontrados para crioscopia apresentaram-se fora das normas estabelecidas, o que leva a suspeitar de adição de água em pelo menos 62,5% das coletas.

Valores diferentes foram encontrado por Nader Filho et al. (1997) em pesquisa realizada em micro usinas de beneficiamento de leite no estado de São Paulo, nos quais apenas 2,5% das amostras de crioscopia se apresentaram fora dos padrões. Mas, em

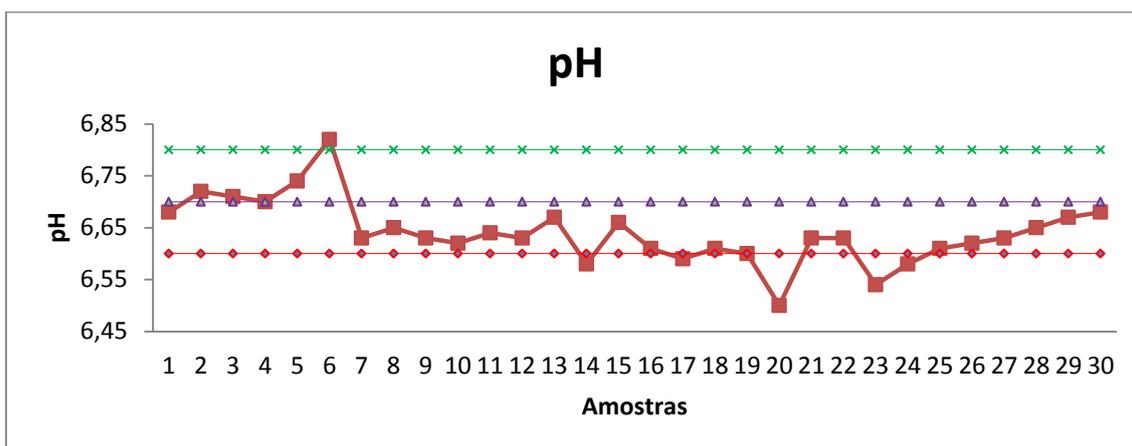
trabalho realizado por Zocche et al. (2002), 75% das amostras se encontraram fora do padrão, no Oeste do Paraná.

Resultados semelhantes também foram encontrados no trabalho de Ferreira et al (2003), que em avaliação do “leite informal” consumido em Sobral, CE, duas (33,3%) amostras das seis analisadas apresentaram-se crioscopia normais. Beloti et al. (1999), em sua pesquisa com 42 amostras de leite cru, detectou também um percentual de 61,4% das amostras fora dos parâmetros de crioscopia determinados pela legislação.

5.1.3 PH

Os resultados das análises de pH nas amostras de leite cru refrigerado são apresentados na Figura 11 a seguir.

Figura 11 - Resultado das análises de pH para leite cru refrigerado



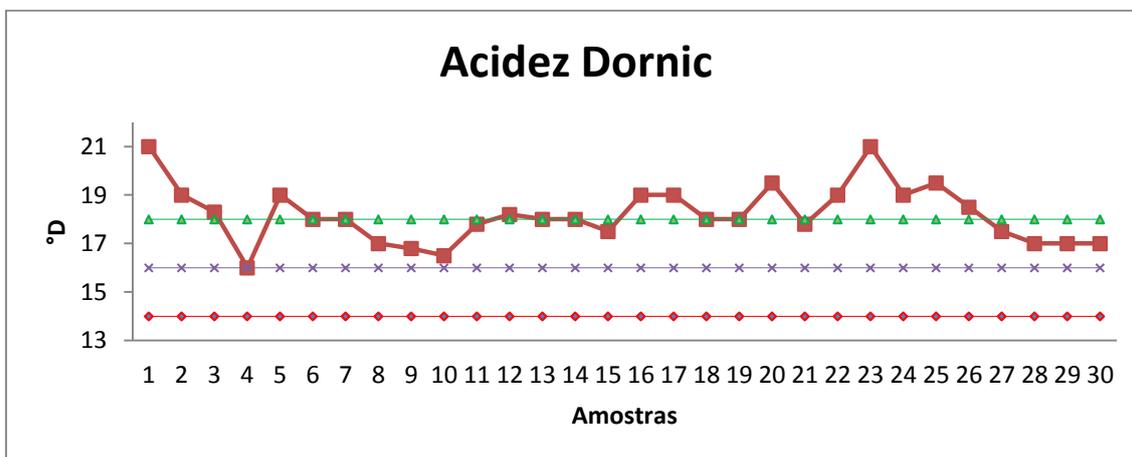
Fonte: próprio autor

As análises de pH mostraram que seis amostras estavam fora dos padrões de pH, sendo que uma estava acima do limite e cinco abaixo. A amostra 6 apresentou um valor de pH de 6,82. Esta diferença em relação às demais amostras pode ter sido devido à presença de 4% água constatada pela crioscopia, conforme pode ser visto na Figura 10. Esta adição de água pode ter diminuído a concentração de ácido láctico, uma vez que houve uma diluição. Os leites das amostras 14, 17, 20, 23 e 24 tiveram pH baixo, o que indica alta acidez e pode ser devido a ação de microrganismos produzindo ácido láctico. Das seis amostras adquiridas no comércio local, quatro apresentaram valores muito próximos da média entre os limites da literatura (PEREIRA, 2001).

5.1.4 ACIDEZ DORNIC

Os resultados das análises de acidez Dornic nas amostras de leite cru refrigerado são apresentados na Figura 12 a seguir.

Figura 12 - Resultado das análises de acidez Dornic para leite cru refrigerado



Fonte: próprio autor

Pode-se verificar que a maioria das amostras apresentaram acidez Dornic elevada. O menor valor de acidez Dornic encontrado foi da amostra 4 onde tivemos um valor medido de 16°D, contudo, esta amostra apresentou uma suspeita de adição de água, conforme pode ser verificado nos resultados de crioscopia apresentados na Figura 10. Esta adição de cerca de 10% de água pode ter reduzido o valor de acidez medido, uma vez que diminuiu a concentração de ácido láctico. O valor elevado de acidez Dornic da maioria das amostras pode ter sido devido às medições terem ocorrido após muitas horas da realização da ordenha. Isto pode ter levado a uma acidificação das mesmas.

Resultados semelhantes foi obtido por Oliveira (2007), que verificou que de 282 amostras de leite analisadas, 186 apresentaram acidez titulável até 0,18% de ácido láctico (leite não-ácido) e 96 acima de 0,18% de ácido láctico (leite ácido).

Outros trabalhos encontraram acidez além dos limites da Legislação, como Ponsano et al. (2001), ao avaliar a qualidade de amostras de leite cru comercializado no município de Araçatuba, constataram que 11,1% apresentavam-se fora dos padrões estabelecidos para acidez titulável. Pode ter relação com falhas no processo de obtenção do leite, ou ainda devido à falta de higiene durante a produção ou problemas relacionados à refrigeração do leite (SILVA et al., 2008).

Outro trabalho sobre acidez foi na cidade de Calçado – PE, aonde os autores observaram que todas as amostras de leite cru coletadas apresentaram valores de acidez

fora dos padrões exigidos pela legislação. Mas em estudo realizado por Mendes et al. (2010), observaram todos os valores de acidez entre 16 e 17°D no leite cru comercializado na cidade de Mossoró – RN.

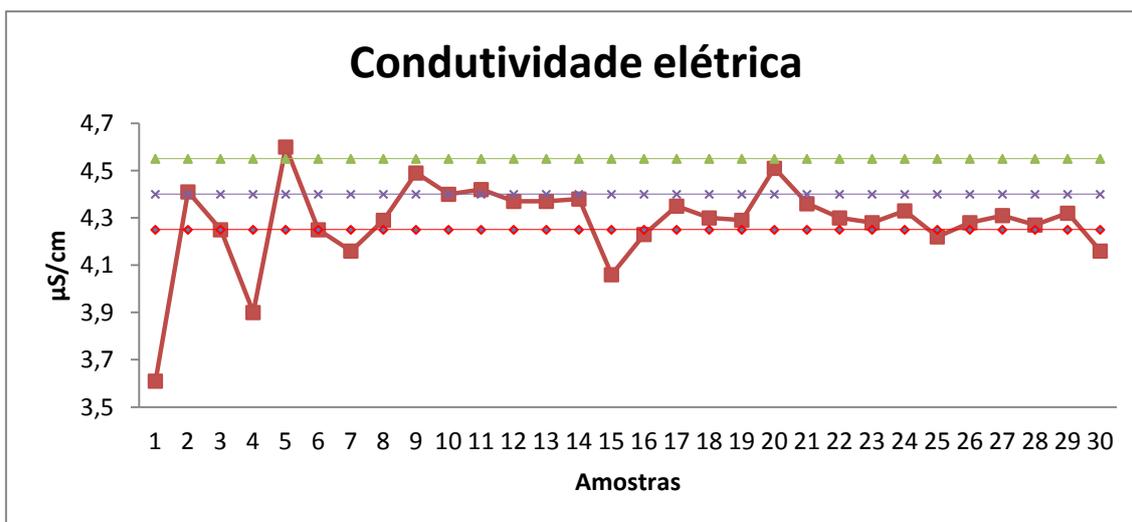
A importância da higiene na ordenha do leite foi estudada por Vallin et al. (2009), que pesquisando 46 amostras de leite cru de 19 municípios da região central do Paraná, sendo 32 de propriedades com ordenha manual e 14 com ordenha mecânica, observaram que, após a implantação de práticas de higiene, houve redução média de 87,90% na contagem bactéria total nas propriedades com ordenha manual e 86,99% nas propriedades com ordenha mecânica.

5.1.5 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

Os limites mínimo e máximo relatados na literatura (SILVA, 1997) para condutividade elétrica do leite cru são de 4,60mS/cm e 4,90mS/cm, respectivamente. Entretanto, neste trabalho utilizou-se os limites de 4,25mS/cm e 4,55mS/cm, pois, estes valores foram adequados devido as características regionais do leite. Experimentos prévios com amostras de leite cru genuíno indicaram que a condutividade elétrica do leite é em torno destes valores citados.

Os resultados das análises de condutividade elétrica nas amostras de leite cru refrigerado são apresentados na Figura 13 a seguir.

Figura 13 - Resultado das análises de condutividade elétrica para leite cru refrigerado



Fonte: próprio autor

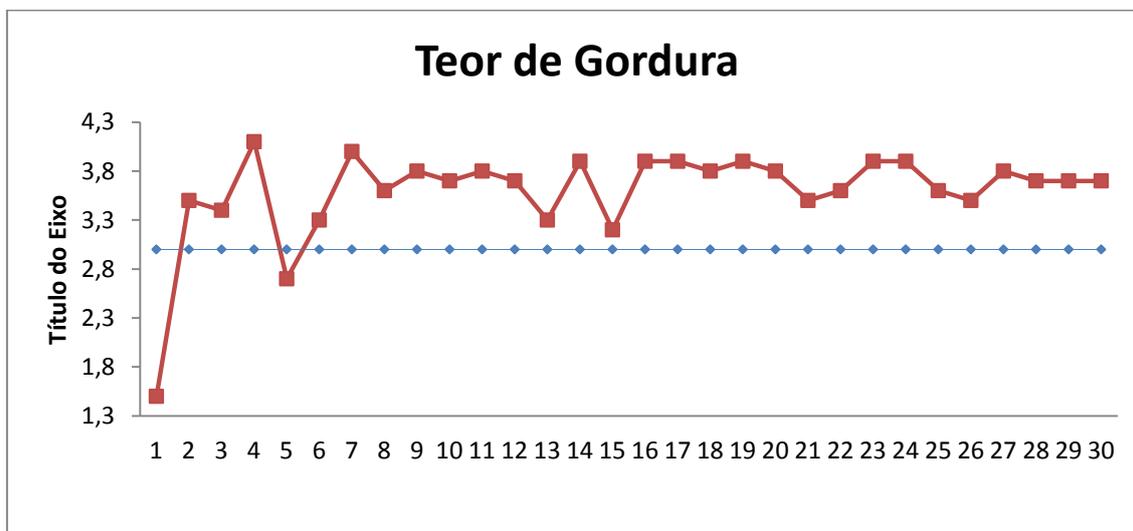
A condutividade elétrica estava abaixo dos limites esperados em sete amostras (1,4, 7, 15, 16, 25,e 30). Estas amostras também apresentaram variações de crioscopia indicando adição de água, conforme Figura 10, o que pode explicar este resultado. Adições de água no leite reduz a condutividade elétrica, uma vez que a água não é boa condutora além de diminuir a concentração de íons do leite, que são os responsáveis pela condutividade elétrica. Especialmente as amostras 1, 4 e 15 apresentaram os menores valores de condutividade e também de crioscopia, o que corrobora com a suspeita de presença de água adicionada.

A amostra 5 apresentou um valor de condutividade elétrica de 4,60 mS/cm, que é acima do limite máximo esperado. Como a acidez Dornic medida nesta amostra foi de 19°D, semelhante à média obtida em todas as amostras, este elevado valor de condutividade pode indicar uma adição de bicarbonato de sódio, ou alguma outra substância neutralizante, que iria reduzir a acidez, porém, elevaria a condutividade.

5.1.6 MÉTODO ULTRASSÔNICO (TEOR DE GORDURA)

Os resultados das análises do método ultrassônico nas amostras de leite cru refrigerado são apresentados na Figura 14 a seguir.

Figura 14 - Resultado das análises de teor de gordura para leite cru refrigerado



Fonte: próprio autor

Na metodologia por ultrassom, as amostras 1 e 5, obtidas no comércio local, tiveram o teor de gordura de 1,5% e 2,7%, respectivamente, sendo abaixo do limite previsto pela Legislação. Porém, estas mesmas amostras apresentaram suspeita de

adição de água pelo método da crioscopia, conforme Figura 10. Portanto, pode ter ocorrido uma diluição da gordura com a presença de água. Variações naturais na composição do leite podem interferir nos resultados medidos.

Martins et al. (2008) também estudaram esses parâmetros analisando 30 amostras de leite provenientes de uma indústria localizada no Estado de São Paulo. Eles observaram que 100% das amostras tiveram o teor de gordura dentro do estabelecido pela legislação brasileira, assim como Souza et al. (2004), em estudo no Norte e Noroeste do Estado do Paraná. Também resultados parecidos foram encontrados no trabalho de Silva et al (2008), que quanto ao percentual de gordura, 100% das amostras estavam de acordo com a legislação, em Angicos – RN.

5.2 ANÁLISES DE LEITES PROPOSITAMENTE FRAUDADOS

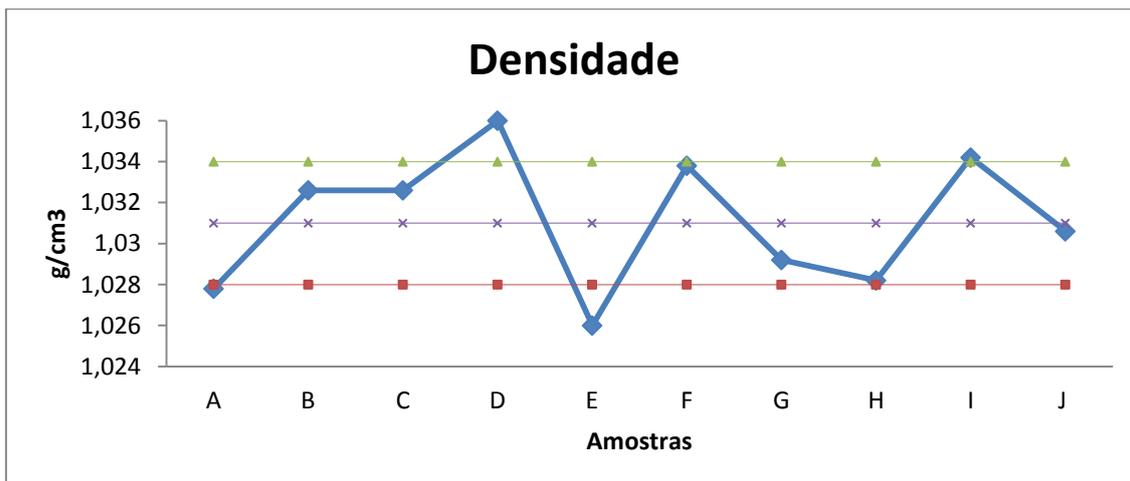
Na Tabela 7 e nas Figuras de 15 a 20 estão reunidos todos os resultados das análises realizadas nas amostras com adulterações preparadas propositalmente. A seguir será discutido todos os resultados das amostras de forma individualizada avaliando a influência em cada um dos métodos estudados.

Tabela 7 - Leites propositalmente adulterados analisados

Amostra	Crioscopia	Acidez Dornic	pH	Densidade	Teor de gordura	Condutividade elétrica	Nota Equação
A	-0,478	17,0	6,74	1,0278	3,1	4,21	-4
B	-0,589	20,0	6,59	1,0326	3,2	5,52	-11
C	-0,595	23,0	6,61	1,0326	3,4	4,65	-7
D	-0,808	15,5	7,45	1,0360	3,4	8,00	-55
E	-0,535	16,0	6,70	1,0260	3,1	5,25	-3
F	-0,765	14,0	6,70	1,0300	4,1	27,10	-173
G	-0,517	15,0	6,74	1,0292	3,5	4,57	0
H	-0,561	18,0	6,71	1,0280	3,5	4,20	0
I	-0,641	15,0	7,16	1,0342	2,7	5,85	-21
J	-0,634	15,0	6,74	1,0306	2,4	4,16	-7

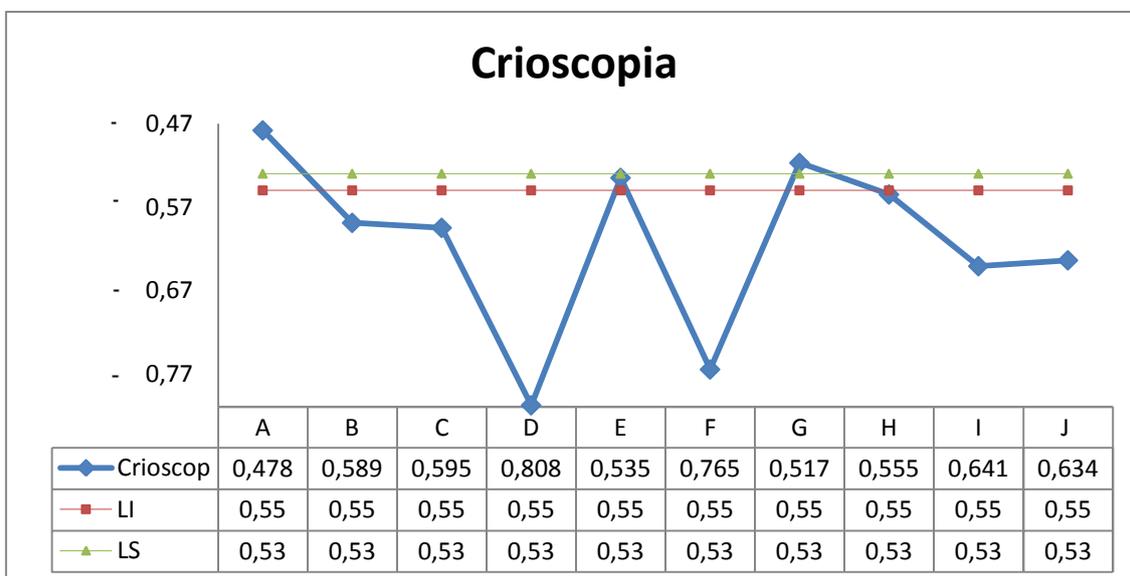
Fonte: próprio autor

Figura 15 - Resultados das análises de densidade para leite adulterado



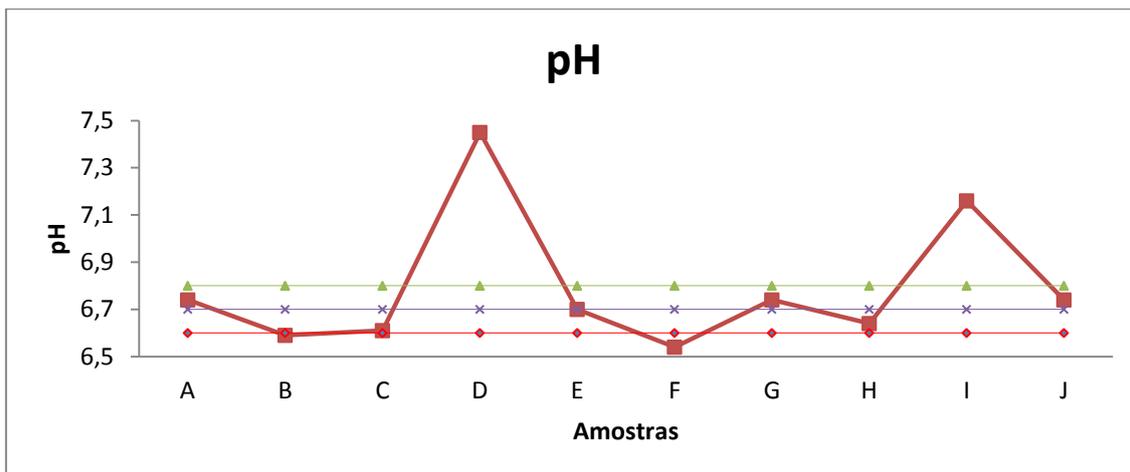
Fonte: próprio autor

Figura 16 - Resultados das análises de crioscopia para leite adulterado



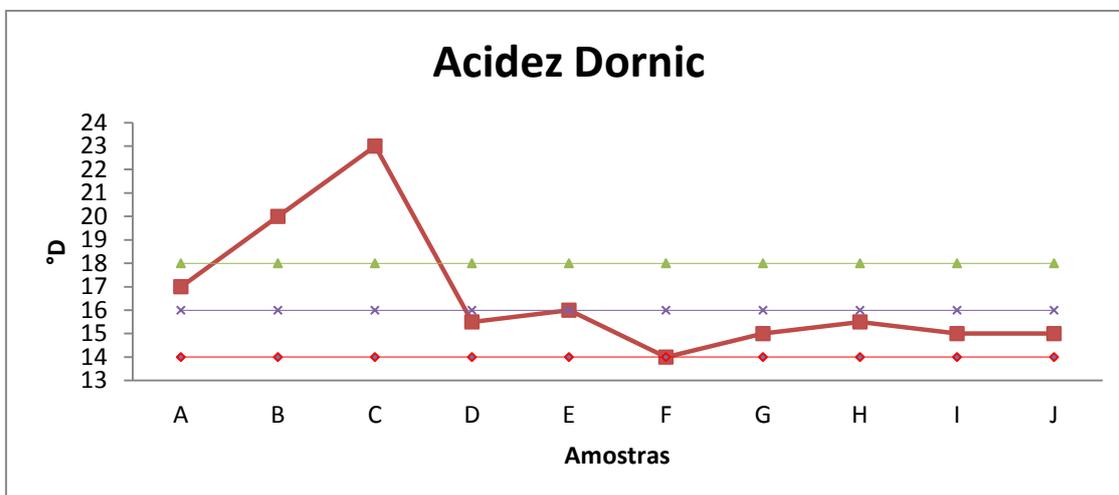
Fonte: próprio autor

Figura 17 - Resultados das análises de pH para leite adulterado



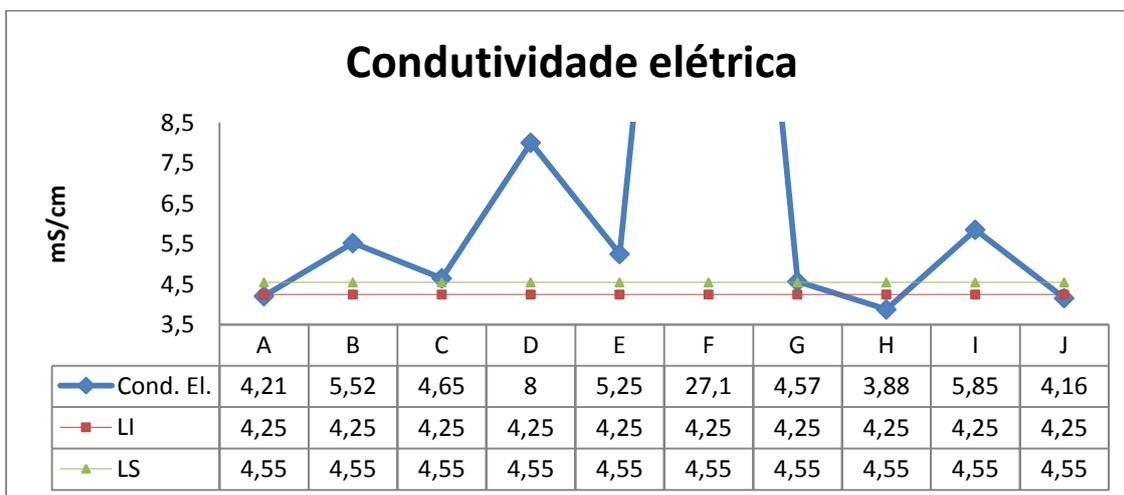
Fonte: próprio autor

Figura 18 - Resultados das análises de acidez Dornic para leite adulterado

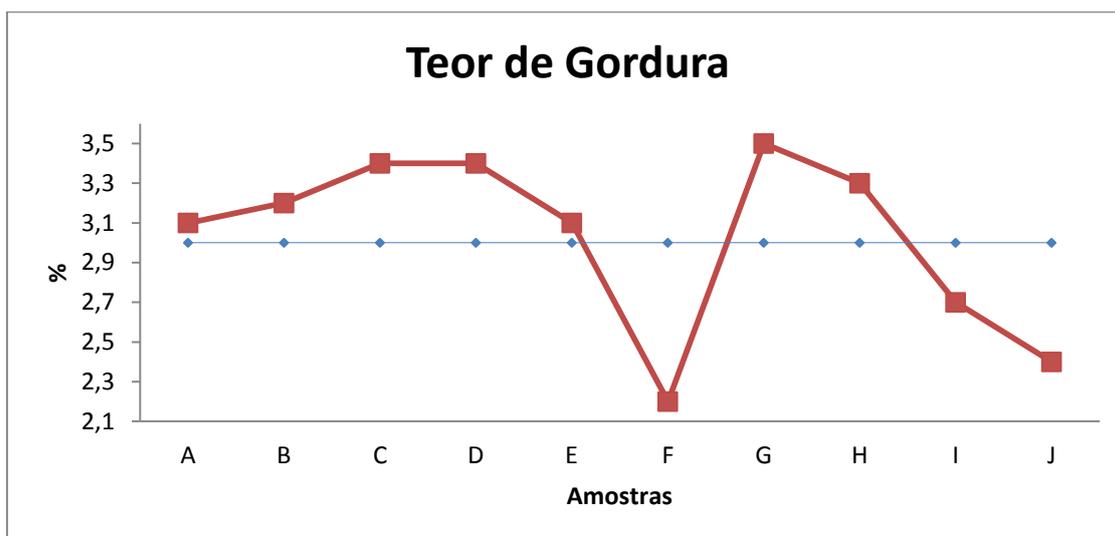


Fonte: próprio autor

Figura 19- Resultados das análises de condutividade elétrica para leite adulterado



Fonte: próprio autor

Figura 20- Resultados das análises de teor de gordura para leite adulterado

Fonte: próprio autor

5.2.1 AMOSTRA A

A amostra A foi preparada com uma adição proposital de 10% p/p de água. Como pode ser visto na Figura 15, adições de água desta ordem não alteram significativamente os valores de densidade, embora o valor medido tenha ficado no limite mínimo aceito pela legislação. Segundo Cruz et al (2010) que pesquisando a partir de qual percentual de aguagem seria identificada fraude no leite, obtiveram alteração da densidade a partir de 10% de adição de água. Em pesquisa realizada por Dias et al (2010), foram observados valores não conformes de densidade somente a partir da adição de 25% de água ao leite. A Legislação determina a pesquisa diária de reconstituintes da densidade no leite cru refrigerado, mas estas provas são laboriosas e demoradas e, às vezes, incompatíveis com a rotina de análises da indústria (BRASIL, 2011).

O resultado do método de crioscopia indicou valores elevados, ou seja, mais próximos de zero o que indica uma suspeita de adição de água, conforme esperado. A crioscopia é uma técnica sensível inclusive à pequena presença de água, pois com apenas 1% de água seu valor já é alterado (CORTEZ et al., 2010).

O valor de pH medido nesta amostra foi de 6,74 ou seja, dentro dos parâmetros que seriam esperados para um leite bom. Isto demonstra que medidas de pH são pouco sensíveis para este tipo de detecção. Resultados parecidos foram obtidos com Santos e Fonseca (2007) que observou que, em relação aos valores de pH, mesmo com a adição de quantidades crescentes de água, as médias não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

O resultado da acidez Dornic também apresentou valor semelhante à de um leite genuíno, sem fraude. Portanto, adições de água tem pouca influência nesta técnica, o que inviabiliza o uso da mesma para esta finalidade. Resultados parecidos foram obtidos por Tronco (2008), que mesmo tendo o leite substituído por até 6% de água, os valores se apresentaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, que permite entre 14 e 18 °D. De acordo com Dias et al. (2010) em experimento, o valor mínimo da acidez Dornic foi de 9,5° D, com a adição de 40% de água.

A condutividade elétrica medida foi de 4,21 mS/cm, ou seja, menor do que a medida em um leite cru original, sem fraude. Isto indica que adições de água diminuem a condutividade do leite e que a técnica pode ser usada para esta finalidade. Esses resultados coincidem com o exposto por Nascimento et al. (2010), que observaram que a adição de sal aumentou progressivamente a condutividade, enquanto a adição de água causou o efeito inverso.

O resultado medido para o teor de gordura foi próximo do valor original do leite e ainda superior ao valor mínimo permitido pela legislação. Adições de água tem pouca influência no teor de gordura medido pelo método ultrassônico, apesar desta adição diminuir a concentração de gordura da amostra. Resultados parecidos foram obtidos por Cruz et al (2010), que a alteração no teor de gordura foi observada acima de 12% de água adicionada.

A adição de água no leite é uma das fraudes mais frequentes e diminui o valor nutritivo além de poder ser uma fonte de contaminação por microrganismos patogênicos, pois, dependendo da qualidade da água que foi adicionada ao leite, ela pode aumentar a população microbiana total (LEMOS, 2011).

5.2.2 AMOSTRA B

A amostra B foi preparada com adição de soro de queijo na proporção de 10% p/p. A adição de soro do leite, oriundo da produção de queijo, é praticada com a finalidade de aumentar o volume do leite. Por possuir na sua composição água, lactose e sais, apresenta densidade e índice crioscópico muito próximos aos do leite, sendo esta uma das fraudes de detecção mais laboriosa e complexa (TRONCO, 2008). Isto pode ser visto no resultado da Figura 15, que apresenta que o valor de densidade ficou semelhante ao do leite original.

As análises de crioscopia tiveram resultados de $-0,589^{\circ}\text{H}$, devido à presença de sal e lactose que provocam abaixamento da crioscopia. Pode-se observar, na Figura 16,

que o soro de queijo utilizado não conseguiu burlar a crioscopia, e os valores baixos de crioscopia significam que a proporção de sal e lactose estava maior que a de água.

O valor de pH medido foi de 6,59, o que significa que a amostra estava com alta acidez. Isto pode indicar que o soro de queijo adicionado já estava ácido elevando o valor medido na amostra. Da mesma forma os resultados de acidez Dornic obtidos foram a cima dos padrões previstos.

A condutividade elétrica medida foi de 5,52mS/cm, ou seja, bem acima do valor previsto para um leite original. Isto se deve a elevada presença de sal no soro de queijo e alta acidez (excesso de ácido láctico), o que acarreta no aumento de portadores de carga na amostra.

A análise de teor de gordura mostrou valores acima do mínimo permitido pela Legislação, portanto, não houve alterações devido a essa adição neste método.

5.2.3 AMOSTRA C

Esta amostra se tratava de um leite cru genuíno, porém, ácido (Acidez 23°D) e, portanto, fora dos padrões de qualidade previstos na Legislação.

As análises de densidade apresentaram valores dentro dos padrões. Isto ocorreu devido a técnica ser pouco sensível a indicação de acidez. O índice crioscópico medido foi de -0,595°H, ou seja, muito acima de um valor esperado para um leite fresco. Isto é devido ao fato do ácido láctico presente provocar redução dos valores de crioscopia. Esta redução acontece pelo fato do ácido láctico ser solúvel no leite, já que a crioscopia é uma propriedade coligativa. O resultado de pH obtido foi de 6,61, ou seja, muito próximo dos limites mínimos esperados. Como o ácido láctico é um ácido fraco, ele pode não ficar completamente ionizado, sendo difícil ser medida sua acidez através do pH.

As análises de condutividade elétrica apresentaram um valor de 4,65mS/cm, que é um valor acima das variações esperadas. Isto se deve ao fato de o aumento de ácido láctico promoveu um aumento na condutividade elétrica.

O teor de gordura estava dentro dos padrões da Legislação, pois o ácido láctico não influencia significativamente nos parâmetros ultrassônicos.

5.2.4 AMOSTRA D

A amostra D exemplifica um tipo de fraude relatado na literatura (TRONCO, 2008), que objetiva reduzir a acidez Dornic de um leite ácido para limites semelhantes à

de um leite fresco. Em nossos experimentos utilizou-se 0,6% p/p de bicarbonato de sódio. A acidez Dornic inicial era de 18°D e após a adição de bicarbonato passou para 15,5°D.

A densidade medida foi um pouco acima do limite máximo, medindo 1,036g/cm³, assim como a crioscopia, -0,808°H. Estes valores se alteraram devido ao bicarbonato de sódio ser solúvel no leite, aumentando a concentração de sólidos. O valor de condutividade elétrica medido foi muito superior aos níveis médios de uma amostra genuína (8,0mS/cm) o que demonstra que a técnica se torna uma boa proposta para este tipo de detecção, como demonstram os trabalhos de Nascimento, et al. (NASCIMENTO, 2017).

Quanto as medidas de pH, o bicarbonato de sódio neutralizou o ácido láctico presente, por isso o pH ficou alto, medindo 7,45.

O teor de gordura se manteve acima do mínimo previsto pela Legislação, demonstrando que o bicarbonato não influenciou nesta análise.

5.2.5 AMOSTRA E

A amostra E foi preparada elaborando uma fraude mista com água e cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações de 10% p/p de água e 0,1% p/p de cloreto. Essas concentrações pré-definidas se mostraram capazes de recuperar a crioscopia de um leite original, o que reproduz um tipo de fraude comum relatado na literatura. O índice crioscópico medido foi de -0,535°H, conforme demonstra a Figura 16, ou seja, dentro do previsto pela Legislação.

O valor de densidade medida nessa amostra foi de 1,026g/cm³, ou seja, um pouco abaixo dos mínimos da Legislação. Os resultados de densidade discutidos neste trabalho tem demonstrado que a técnica é pouco sensível. Esse resultado poderia se confundir a variações naturais da amostra e não se concluir sobre uma possível fraude.

Os valores medidos de pH e acidez Dornic, também ficaram dentro dos limites previstos, o que indica que não houve alterações significativas na acidez desta amostra.

O resultado da análise de condutividade elétrica foi de 5,25mS/cm, ou seja, um valor elevado. Isto se dá devido a adição de NaCl que ao se dissociar formam íons que são bons condutores elétricos. Portanto, a condutividade se mostrou uma técnica muito sensível para detecção de cloreto de sódio no leite. Este resultado concorda com os apresentados por Nascimento, et al (NASCIMENTO, 2017) que demonstra que a técnica permite detectar essas substâncias em baixas quantidades.

Novamente não houve diferenças significativas do teor de gordura medido.

5.2.6 AMOSTRA F

A amostra F também representa uma fraude mista preparada com adições de água e cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações de 35% p/p de água e 0,2% p/p de cloreto. Estas concentrações preparadas demonstraram capazes de burlar as medidas de densidade, que também são relatadas na literatura como exemplos de fraudes mistas. Os resultados de densidade ficaram dentro dos valores de um leite original, conforme demonstra a Figura 15.

O índice crioscópico medido foi de $-0,765^{\circ}\text{H}$, portanto, um valor elevado, enquanto o pH ficou abaixo dos limites previstos na Legislação, indicando acidificação. Contudo, a acidez Dornic apresentou valores próximos do limite inferior aceito (14°D).

Segundo Tronco, (TRONCO, 2008) a adição de reconstituintes de densidade e crioscopia não apresenta efeito significativo sobre a acidez Dornic do leite, ao contrário da adição de água, que, por apresentar pH superior ao do leite, reduz a acidez média devido, provavelmente, à diluição do ácido láctico presente no leite.

O valor da condutividade elétrica foi muito alto, cerca de 27,1 mS/cm, pois já discutido a adição de cloreto de sódio é muito significativa.

Quanto ao teor de gordura, como a amostra foi preparada com 35% de água, houve uma diluição e o teor de gordura, foi de 2,2%.

Segundo Souza et al. (2011) o produtor não consegue a concentração exata de reconstituente que deve ser preparada, o que torna essas fraudes fáceis de serem detectadas.

A adição de água e reconstituintes não representa risco à saúde do consumidor, mas por promover uma diluição dos seus componentes, promove uma redução no seu valor nutricional (SOUZA et al, 2011).

5.2.7 AMOSTRA G

A amostra G também representa uma fraude mista pré-balanceada de água a 10% p/p e sal a 0,05% p/p. O resultado da análise de condutividade foi de 4,57mS/cm, ou seja, um pouco acima dos limites esperados. Os resultados de densidade ficaram dentro dos valores de um leite original, conforme demonstra a Figura 15, enquanto a análise de crioscopia encontrou-se um valor bem próximo dos limites da Legislação (-

0,517°H). Os resultados demonstraram que esta fraude mista conseguiu reconstituir valores próximos aos de um leite original tanto para a condutividade, quanto para a densidade, mas não a crioscopia.

Os valores medidos de pH e acidez Dornic, ficaram dentro dos limites previstos na literatura (PEREIRA, 2001), e Legislação respectivamente, o que indica que não houve alterações significativas na acidez desta amostra.

O teor de gordura ficou de acordo com os padrões. A adição de água em 10% p/p não é suficiente para provocar diluição no teor de gordura.

5.2.8 AMOSTRA H

A amostra H foi preparada com uma quantidade de 10% p/p de água e 0,15% p/p de álcool. O resultado da análise de crioscopia ficou um pouco abaixo do limite mínimo da Legislação, com -0,555°H. A adição de álcool abaixa o ponto de congelamento da amostra.

Água e álcool são substâncias que reduzem o valor da densidade, o valor medido foi de 1,0282 g/cm³, que apesar de ser um valor baixo, ainda está dentro dos padrões mínimos previstos. O fato do valor medido de densidade não ter sido muito reduzido é devido esta técnica não ser muito sensível. Tanto a água quanto o álcool são substâncias com baixa condutividade elétrica, com isso o valor foi reduzido para 3,88mS/cm.

Os valores de pH e acidez Dornic ficaram dentro dos padrões, pois o leite não estava acidificado.

Gordura também teve valores normais, já que a adição de água não diluiu a gordura.

5.2.9 AMOSTRA I

Para se preparar a amostra I adicionou-se bicarbonato de sódio na concentração de 0,2% p/p a um leite ácido, com 19°D. O objetivo da adição de bicarbonato foi reduzir a acidez para 15°D e burlar a acidez Dornic, simulando uma tradicional fraude relatada na literatura.

A adição do bicarbonato influenciou na redução da crioscopia. O índice medido foi de -0,641°H. Houve uma elevação da densidade em relação a uma amostra genuína. A densidade medida foi de 1,0342g/cm³.

Devido ao fato de tanto o bicarbonato de sódio ao ser adicionado ao leite aumentar a condutividade elétrica devido aos íons oriundos da dissociação, quanto o aumento referente ao aumento do ácido láctico, o valor medido foi de 5,85mS/cm, bem a cima de um valor esperado para um leite genuíno.

A acidez Dornic se reduziu para 15°D, e o pH aumentou para 7,16, pelo fato do bicarbonato neutralizar acidez.

O resultado do teor de gordura se mostrou inferior ao valor mínimo da Legislação, pois o leite já pode ter sido adquirido com teor de gordura baixo.

5.2.10 AMOSTRA J

A amostra J foi preparada com adição de 12,5% p/p de peróxido de hidrogênio, em um leite ácido medindo 19°D. A adição deste neutralizante reduziu a acidez do leite de 19°D para 15°D. O valor de pH foi 6,74 reforçando que a acidez do leite foi reduzida após a adição.

O valor de crioscopia abaixou em relação a um leite genuíno, medindo -0,634°H. Isto se deve ao fato do peróxido de hidrogênio ser solúvel no leite, influenciando então nos valores desta metodologia.

A adição do peróxido de hidrogênio não elevou a densidade, pelo fato desta ser uma metodologia pouco sensível.

A condutividade elétrica ficou com valor baixo (4,16mS/cm), pelo fato de o peróxido de hidrogênio não ser um bom condutor de eletricidade.

O resultado do teor de gordura medido foi inferior ao valor mínimo da Legislação, porém, este teor medido no leite já estava abaixo mesmo antes da adição do peróxido. Isto pode ter ocorrido devido a variações naturais que influenciaram no teor de gordura.

5.3 EQUAÇÃO MATEMÁTICA PARA QUALIDADE

Como pode ser observado nas discussões anteriores, uma única técnica de análise pode não ser suficiente para detectar determinada fraude ou adulteração. Com isso, quanto maior o número de métodos simultâneos de análise, mais robusto fica este controle. Entretanto, as diversas informações podem trazer fatores complicadores para o entendimento e conclusão à cerca das condições da amostra analisada, além de requerer

profissionais experientes e com domínio teórico sobre o tema para uma correta interpretação dos resultados. Diante disto, este trabalho propõe uma equação que correlacione os diversos resultados obtidos a partir dos métodos de análise discutidos, a fim de ranquear as amostras utilizando como referência um valor numérico apresentado por esta equação (uma nota), fazendo com que se tenha uma análise quantitativa da qualidade do leite. Portanto, o uso desta equação na rotina de análises em laboratório poderia contribuir na organização das informações obtidas pelos métodos, facilitando a interpretação e classificando a amostra analisada tendo como referência uma graduação numérica obtida pela nota final da equação.

A equação proposta se baseia na utilização das variáveis físico-químicas relevantes e disponíveis no laboratório que serão realizadas as análises. Ela foi elaborada baseando-se nos limites mínimos e máximos das técnicas estabelecidos na Legislação e na literatura e é apresentada a seguir, nas Equações 1 e 2.

Equação 1 - Equação geral proposta para avaliar quantitativamente a qualidade do leite

$$Fq = \left[\sum_{i=1}^N \left(i - \left| \frac{Xi - \bar{X}i}{\sigma} \right| \right) \right] + \left[\sum_{j=1}^N \left(j - \frac{Ymin}{Yj} \right) \right]$$

Fonte: próprio autor

A equação pode ser dividida em duas partes que estão destacadas por colchetes. A primeira parte se refere às técnicas e possuem limites mínimos e máximos previstos pela Legislação e/ou literatura. A segunda se refere, àquelas que possuem apenas valores mínimos previstos. As variáveis estão descritas no quadro a seguir:

i: número de métodos de análises utilizadas que possuem limites máximo e mínimo previstos

σ : é a variação relacionada à diferença entre o valor médio e os valores máximo e mínimo. ($\sigma = X_{mínimo\ ou\ máximo} - \bar{X}i$)

X_i : são os valores medidos das variáveis para cada técnica utilizada nesta parte

\bar{X}_i : é o valor médio obtido entre valores máximo e mínimo previstos pela legislação para cada propriedade físico-química

j: número de variáveis que possuem apenas valores mínimos previstos

Y_{min} : é o valor mínimo previsto pela normativa para essas variáveis

Y_j : é o valor medido dessas variáveis

As notas obtidas pela equação poderão variar entre valores positivos e negativos, sendo que quanto maiores forem essas notas, sugere que melhor seja a qualidade do leite analisado. Enquanto que para valores negativos ou próximos de zero indicam baixa qualidade da amostra de leite. A primeira parte da equação tem um valor máximo equivalente ao índice i que representa o número total de análises com mínimos e máximos previstos. Enquanto que a segunda parte possui um valor máximo equivalente ao número j de análises realizadas que possuem apenas valores mínimos previstos. Obviamente, trata-se de uma condição hipotética com um teor infinito desta substância. Portanto, o valor máximo possível de ser obtido será igual a $i + j$. Poderão haver exceções a esta interpretação, para casos de fraudes mistas, pois, estas tendem a burlar determinadas metodologias de análise, impactando nos valores finais medidos. Contudo, como será apresentado a seguir, todas as fraudes estudadas, incluindo as mistas, apresentaram valores baixos, sendo negativos ou próximos de zero.

Neste trabalho foram utilizados cinco métodos de análise que possuíam valores mínimos e máximos: crioscopia, acidez Dornic, pH, densidade e condutividade elétrica ($i=5$) e uma técnica para quantificação do teor de gordura (método ultrassônico) que é definida como tendo apenas um valor limite mínimo ($j=1$). A equação geral proposta acima (Equação 1) fica para este caso da seguinte forma:

Equação 2 - Equação para obter uma nota que representará a qualidade do leite neste trabalho

$$Fq = \left[5 - \left| \frac{(criosc - 0,540)}{0,010} \right| + \left| \frac{(dens - 1,031)}{0,003} \right| + \left| \frac{(cond - 4,40)}{0,15} \right| + \left| \frac{(Dornic - 16)}{2} \right| + \left| \frac{(pH - 6,7)}{0,1} \right| \right] + \left[1 - \left(\frac{3}{gord} \right) \right]$$

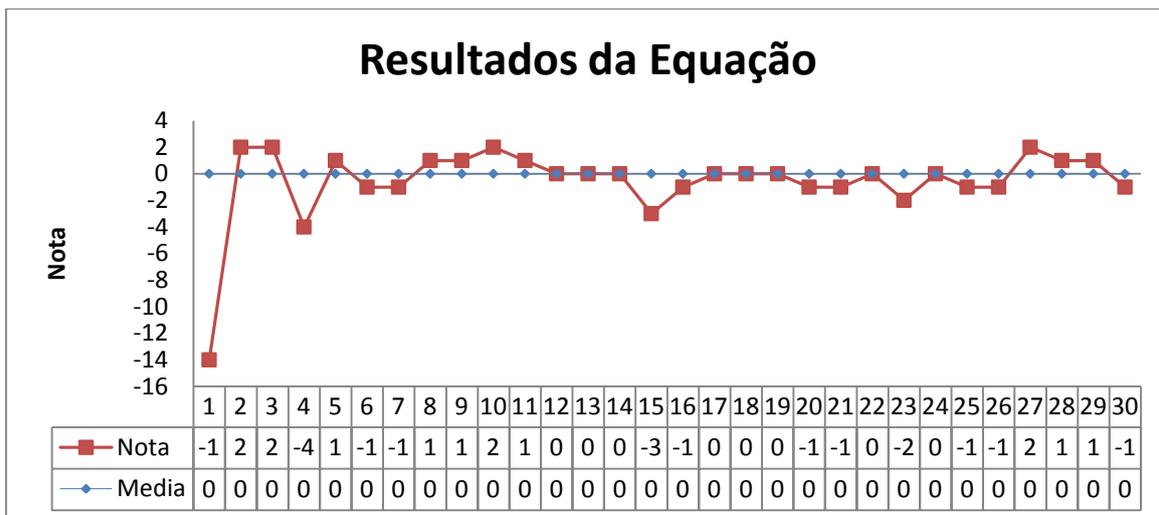
Fonte: próprio autor

Ressalta-se que o número de métodos de análise (i e j) irá depender dos métodos e equipamentos disponíveis em cada laboratório. Para o caso dos experimentos discutidos neste trabalho, haviam seis metodologias no total, sendo cinco com limites máximos e mínimos previstos e uma com apenas um limite mínimo. Com isso, para o nosso caso a nota máxima possível será um valor 6 atribuída a um leite considerado ideal sendo obtida quando os resultados das análises ficam muito próximos da média dos limites da Legislação. As notas de 0 a 6 significam um leite com boa qualidade e notas inferiores a -1 indicam um leite com baixa qualidade. Portanto, quanto menor a nota obtida pela equação sugere-se uma menor qualidade do leite analisado.

5.3.1 RESULTADOS DA EQUAÇÃO OBTIDOS NAS ANÁLISES DOS LEITES CRU REFRIGERADOS

Os resultados obtidos pela equação a partir das análises realizadas nas amostras de leite cru refrigerado são apresentados na Figura 21 a seguir.

Figura 21 - Resultados da equação, obtidas das análises em leite cru refrigerado



Fonte: próprio autor

Mais de 70% das amostras de leite cru refrigerado tiveram resultados da equação muito próximas de zero, indicando uma qualidade média das amostras. Isto foi devido a maioria das amostras terem apresentado um valor de crioscopia que indicava adição de cerca de 2,5% de água, conforme foi discutido na seção 5.1.2. Este resultado refletiu em uma redução do conceito de qualidade obtido pela equação.

Doze amostras tiveram notas negativas, o que sugere um leite com qualidade baixa, pois em quase todas destas amostras pelo menos duas metodologias estavam com valores fora da Legislação. As amostras 1 e 4 que apresentaram nota inferior a -4 devido a medida de crioscopia estar alta (Figura 10) e condutividade também (Figura 13).

As amostras que tiveram duas ou mais metodologias com valores fora dos limites da Legislação tiveram notas mais baixas.

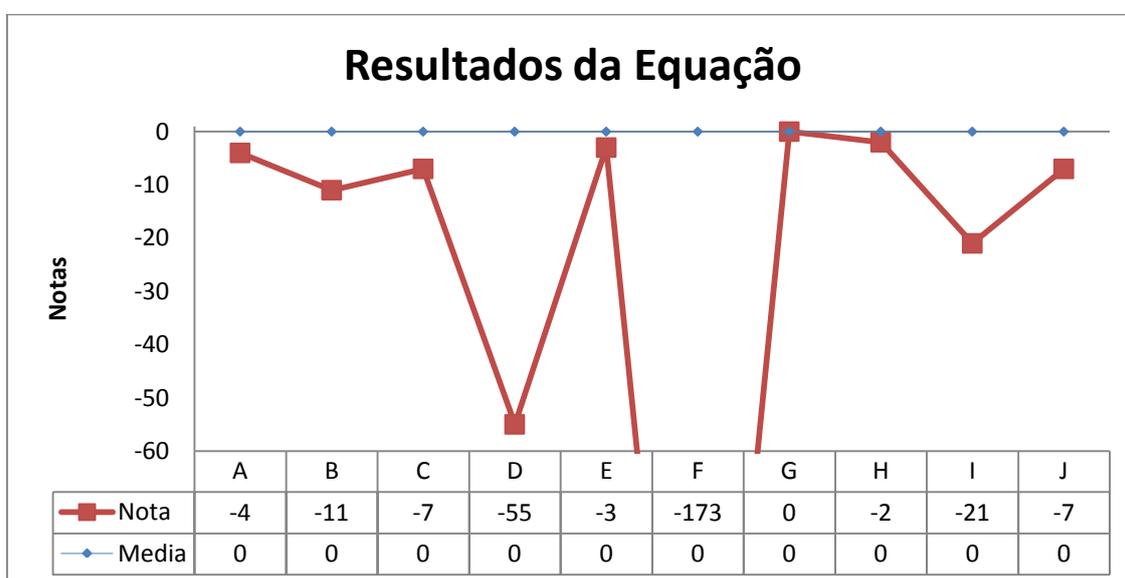
As amostras obtidas em comércio local apresentaram variações mais significativas das notas, enquanto que àquelas adquiridas no laticínio tiveram notas semelhantes. As amostras 2 e 3 compradas no comércio e as amostras 10 e 27 provenientes do laticínio obtiveram as maiores notas (+2), indicando boa qualidade.

De acordo com Veras et al (2002) a baixa qualidade do leite cru pode estar relacionada ao manejo alimentar e sanitário, bem como às práticas de transporte e armazenamento do leite, além de realização de fraudes.

5.3.2 RESULTADOS DA EQUAÇÃO OBTIDOS DE ANÁLISES DAS AMOSTRAS PREPARADAS COM LEITES ADULTERADOS

Os resultados obtidos pela equação a partir das análises realizadas nas amostras preparadas com leites adulterados são apresentados na Figura 22 a seguir.

Figura 22 – Resultados da equação, obtidas das análises de leite propositalmente adulterado



Fonte: próprio autor

Conforme discutido nas seções anteriores, estas amostras foram preparadas a partir de tradicionais classes/tipos de fraudes relatadas na literatura, a citar: aumento de volume por adição de água e/ou soro de queijo, fraudes mistas mesclando substâncias capazes de burlar determinadas técnicas de análise e alta acidez reconstituída com neutralizantes. Contudo, em todos os casos a equação se mostrou eficiente para a detecção e quantificação da qualidade do leite analisado, apresentando valores negativos em todas elas, sendo que a maioria apresentou resultados muito baixos. Este resultado corrobora com as situações que foram preparadas e comprovam a baixa qualidade.

Com o objetivo de simular fraude de aumento de volume, se preparou a fraude na amostra A com 10% de água p/p e a fraude na amostra B com soro de queijo a 10% p/p. A equação foi eficiente para detectar fraude por aumento de volume, pois as notas foram -4 e -11.

Para simular leite ácido e avaliar acidez se preparou a amostra C, e ela foi detectada pela equação, pois recebeu nota -7.

A amostra D teve adição de bicarbonato de sódio em leite não ácido simulando uma tentativa de fraude para evitar acidificação, contudo, a equação também foi capaz de detectar, apresentando uma nota de -55.

Nas amostras E, F, G, H são fraudes mistas, e foram preparadas com o objetivo de burlar algumas das técnicas de análise, simulando casos descritos na literatura, porém, em todos estes casos a equação foi eficiente, pois as notas foram sempre baixas, respectivamente -3, -173, 0, -2.

Tanto na fraude I como na J foram acrescentados neutralizantes para reduzir a acidez, e a equação foi eficiente para detectar estas fraudes, pois as notas foram -21 e -7 respectivamente.

Apenas a amostra G apresentou uma nota zero, o que significa um tipo de fraude mista mais complexa, no sentido de tentar burlar mais de duas técnicas. Isso dificulta a identificação, entretanto, ainda assim se tratou de uma nota baixa se comparada a nota de máxima atribuída a um leite ideal que seria seis neste caso.

A amostra F teve a menor nota, com -173, pois foi uma fraude com grandes quantidades de cloreto de sódio (0,2% p/p) e água (35% p/p).

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho discutimos análises de rotina e métodos oficiais para controle da qualidade do leite e detecção de fraudes e foi proposta uma equação para quantificar a qualidade do leite. Foram discutidos diversos tipos de fraudes relatadas na literatura e experimentos foram realizados onde preparou-se amostras com adições propositais no leite avaliando os parâmetros físico-químicos medidos em cada amostra. Também, avaliou-se trinta amostras de leite cru refrigerado obtidos em laticínios e comércio local da cidade.

Os resultados demonstraram que alguns métodos são passíveis de serem burlados, especialmente, diante de fraudes mistas, onde são adicionadas mais de uma substância em concentrações pré-balanceadas. Isto foi verificado nas análises de crioscopia, densidade, acidez Dornic e condutividade elétrica.

Além disso, alguns métodos se mostraram pouco sensíveis para detecção das adições propostas, uma vez que apresentaram valores ainda dentro dos limites previstos pela legislação e literatura, como no caso da densidade, acidez Dornic e pH.

Os resultados de condutividade elétrica demonstraram que a técnica é bastante sensível, especialmente para identificação de adições de cloreto e bicarbonato de sódio, conforme previsto pela literatura.

Nas amostras de leite cru refrigerado obtidos no laticínio e comércio local tivemos parâmetros físico-químicos semelhantes, especialmente, nas amostras do laticínio, demonstrando características particulares das amostras de leite da região devido a fatores naturais. Neste sentido, a crioscopia das amostras ficaram levemente alta, indicando uma adição de água de cerca de 2,5%, entretanto, a reprodutibilidade deste valor medido nas diversas amostras sugerem uma característica local dos leites.

De forma geral os valores de acidez ficaram elevados, devido as análises não serem realizadas imediatamente após a ordenha e sim em nosso laboratório, após transcorrido certo tempo, o que deve ter permitido uma relativa acidificação das amostras, apesar do transporte refrigerado.

Os resultados demonstraram que as técnicas possuem limitações e que quando utilizadas de maneira individual podem não conseguir identificar determinadas adulterações, especialmente as fraudes mistas e que se faz necessário um número maior de métodos simultâneos para que se tenha uma identificação mais robusta e confiável. Contudo, os diversos gráficos e resultados apresentados evidenciaram a complexidade

da interpretação dos dados analisados para que se tenha uma conclusão sobre a qualidade das amostras de leite.

Neste sentido avaliou-se o uso da equação proposta e os resultados obtidos neste trabalho demonstraram eficiência em todas as detecções das amostras estudadas. Em todas essas classes de fraudes simuladas as notas foram baixas indicando que se tratava de um leite com baixa qualidade e/ou suspeito de alguma adição.

Para as análises das amostras de leite cru refrigerado originais obtidas, as notas concordaram com os parâmetros físico-químicos medidos e com as respectivas situações das amostras. As notas para as amostras, especialmente, as que foram obtidas no laticínio ficaram relativamente estáveis, indicando uma qualidade regular das amostras.

Portanto, a equação proposta se mostrou uma ferramenta eficiente para auxiliar na organização dos dados de análise realizados num laboratório de controle de qualidade, facilitando na conclusão a cerca da qualidade das amostras. Para cada valor físico-químico incluído na equação se contribui para uma quantificação desta qualidade do leite, originando um fator numérico que consegue graduar essa qualidade e indicar possíveis fraudes. Com o uso da equação proposta nas rotinas de análise, espera-se contribuir facilitando e agilizando os processos, uma vez que conclui numericamente a cerca da qualidade da amostra.

7 REFERÊNCIAS

ABVL, Associação Brasileira da Indústria de Leite Longa Vida. 2007. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/leiteLongaVida/index11.html>>. Acesso em 30 de novembro de 2017.

ALVES, Laura Beatriz. Técnica de identificação de adulteração no leite via ultrassom e regras fuzzy. Limeira, SP, 2015. Disponível em: <www.ime.unicamp.br/~biomat/bio25art3.pdf> Acesso em: 19 de outubro de 2017.

AQUINO, L. F. M. C. **Estudo da fraude com soro de queijo em leite através das metodologias de ácido siálico livre, eletroforese SDS- PAGE e análise sensorial.** 2013. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro.

BARBOSA, A. S.; PIRES, V. C. F.; BARBOSA, A. S.; CANUTO, T. M.; ARAUJO, A. P.; NUNES, L. S. Características Físico-Químicas e Microbiológicas do Leite Cru e Pasteurizado Consumido no Município de Queimadas, PB. 2007. Disponível em: Acesso em: 10 de novembro de 2017.

BELOTI, V. et al. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado em Cornélio Procópio-PR: controle do consumo e da comercialização. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 20, n. 1, p. 12-15, 1999.

BÍBLIA SAGRADA, Antigo Testamento, 2ª ed., Ed. Vozes: Rio de Janeiro, 2003.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Padrões Microbiológicos para Alimentos. RDC nº12 de 02 de Janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite. Instrução Normativa 51, 18/09/02. Brasília: Ministério da Agricultura, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – **RIISPOA**. Aprovado pelo Decreto nº 30.691 de 29/03/1952, alterado pelos Decretos nº 1.255 de 25/06/1962, nº 1.236 de 02/09/1994, nº 1.812 de 08/02/1996, nº 2.244 de 04/06/1997 e nº 6385 de 27/02/2008. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 27 fev. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA e do Serviço de Inspeção Federal - SIF, vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 62**, de 29 de dezembro de 2011. Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. Brasília: 2011. 24 p. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?data=30/12/2011&jornal=1&pagina=6&totalArquivos=160>>. Acesso em: 09 de setembro de 2017.

BREUX, S; PEREIRA, EA; OSELAME, CJ. Produção de bebida láctea não fermentada achocolatada com a adição de soro de leite, TCC, UTFPR, Pato Branco, 2013.

BRITO, M.A.; BRITO, J.R.; ARCURI, E.; LANGE, C.; SILVA, M.; SOUZA, G. Acidez Titulável. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, 2005. Disponível em: Acesso em: 05 de setembro de 2017.

BUCKIN, V.; O'DRISCOLL, B.; SMYTH, C. Ultrasonic spectroscopy for material analysis: recent advances. **Spectroscopy Europe**, Chichester, v. 15, n. 1, p. 20-25, 2003.

CARVALHO, B, M, A.; CARVALHO, L, M.; ALCÂNTRA, L, A, P.; BONOMO, R, C, F. Método de detecção de fraude em leite por adição de soro de queijo. REDVET – Revista Electrónica de Veterinária. Nº 6, Vol. VIII; Espanha; JUN de 2007.

CASTANHEIRA, A. C. G. Manual Básico de Controle de Qualidade de Leite e Derivados – comentado. São Paulo: Cap. Lab, 2010. 276 p.

CHAPAVAL, L. **Deteção de enterotoxinas produzidas por Staphylococcus aureus no leite bovino por eletroforese capilar e identificação dos isolados enterotoxigênicos via PCR.** 1999. 25f. Tese doutorado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perspectivas para a agropecuária.** Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília, v.3, p. 1-130, 2015.

CORTEZ, M. A. S.; DIAS, V. G; MAIA, R. G; COSTA, C. C. A. Características Físico- químicas e Análise Sensorial do Leite Pasteurizado adicionado de Água, Soro de Queijo, Soro Fisiológico e Soro Glicosado. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v.65, n.376, p. 18-25, 2010.

CRUZ, E. N.; SANTOS, E. P. Aguagem do leite: métodos básicos de identificação. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO Á DOCÊNCIA, 11. 2009, Paraíba. Anais. Paraíba: UFPB, 2010.

DIAS, V. G. et al. Características físico-químicas e análise sensorial do leite pasteurizado adicionado de água, soro de queijo, soro fisiológico e soro glicosado. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 65, n. 376, p. 16-25, 2010.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO DISTRITO FEDERAL. **Plano Executivo de Desenvolvimento Sustentável da cadeia produtiva da pecuária leiteira no Distrito Federal.** Brasília, 2008. 41p.

FERREIRA, N. D. L.; FERREIRA, S. H. F.; MONTE, A. L.de S.; VASCONCELOS, N. L. Avaliação das condições sanitárias e físico-químicas do leite informal consumido em Sobral, Ceará. Revista Higiene Alimentar, v. 17, n. 108, p. 79-82, 2003.

FILHO et al. Caracterização físico-química e microbiológica do leite ‘in natura’ comercializado informalmente no município de Garanhuns – PE. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, n. 2, v. 3, p. 38-46, 2009.

FONSECA, L. F. L. & SANTOS, M. V. **Estratégias de controle de mastite e melhoria da qualidade do leite.** Barueri: Manole, 2007. 314p.

FONSECA, L. M.; RODRIGUES, R.; SOUZA, FREITAS, J. A., SILVA, R. A. G., NASCIMENTO, J. A. C. Características do leite fluido consumido em Belém, Pará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v. 47, n. 3, p. 435- 445, 1995.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAO.** 2015. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acesso em: 14 de setembro de 2017.

FOSCHIERA, J L. **Indústria de Laticínios: Industrialização do leite, análises, produção de derivados.** Porto Alegre: Ed. Suliani Editografia Ltda, 2004.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Editora Ateneu, 2008.

FUENTE, M. A.; JUAREZ, M. Authenticity Assessment of Dairy Products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition,** v.45, p.563–585, 2005.

GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In:GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Ed.). **Uso do leite paramonitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras.** Porto Alegre: Ed.UFRGS, 2001. p.44-57.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicativos agropecuários. 2015.** Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl1.asp?c=1086&n=0&u=0&z=t&o=24&i=P>>. Acesso em: 01 de Novembro de 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

LACTOSCAN. **Ultrasonic Milk Analysers.** Disponível em: <<http://www.lactoscan.com/faq.html>>. Acesso em: 01 de Novembro de 2017.

LANGE, Carla C.; BRITO, J. F. Micro-organismos que Deterioram a Qualidade do Leite. Agosto 2005.

LEMOS, Ana Carolina. **Determinação do índice crioscópico de leite cru e pasteurizado pela utilização de crioscópio eletrônico e por ultrassom.** 2011. p. 16-18. Monografia (Conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Brasília). Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, 2011.

MAFUD, M. D.; ROSSI, R. M.; CAMPOS, E. M.; NEVES, M. F.; SCARE, R. F. Não conformidade na cadeia produtiva do leite: problemas institucionais. In: XLV CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 45.. 2007, Londrina. **Anais...** Londrina: SOBER, 2007. p. 1-15.

MAGRI, Luiz Paulo. QUANTIFICAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL E pH UTILIZANDO TÉCNICA POTENCIOMÉTRICA COMO INDICADOR DE QUALIDADE DO LEITE BOVINO. UFJF, Juiz de Fora, 2015. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/mestradoleite/files/2015/05/Disserta%C3%A7%C3%A3oFinal6.pdf>> Acesso em: 21 de novembro de 2017.

MARTINS, A. M. C. V.; JUNIOR, O. D. R.; SALOTTI, B. M.; BURGER, K. P.; CORTEZ, A. L. L.; CARDOZO, M. V. Efeito do processamento UAT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 2, p. 295-298, abr./junho 2008.

MASON, T. J., PANIWNKY, L.; LORIMER, J. (1996). The uses of ultrasound in food technology, *Ultrasonics Sonochemistry* 3(3): 253–260.

MENDES, C. G. et al. 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, 2010.

MENDONÇA, A. H. Qualidade físico-química de leite cru resfriado: comparação de diferentes procedimentos e locais de coleta. In: Congresso Nacional de Laticínios, 18., 2001, Juiz de Fora. *Anais...* Juiz de Fora: Templo. 2001. p. 276-282.

MILES, C.A., SHORE D., LANGLEY K.R. Attenuation of ultrasound in milks and creams. *Ultrasonics*, 28(6):394 – 400, 1990.

MONTIPÓ, Rosamélia Berleze. **Determinação do Ponto de Congelamento do Leite Bovino “in natura” da Bacia Leiteira de Santa Maria-RS**. UFSM: Dissertação de Mestrado. Santa Maria/RS, 1992.

NADER, FILHO, A.; BADINI, K. B.; AMARAL, L. A. Hábitos dos consumidores de leite cru, produzido e comercializado clandestinamente nos municípios de Botucatu/ SP e de São Manuel/SP. *Revista Higiene Alimentar*, v. 11, n. 51. p. 15-17, 1997.

NASCIMENTO, W. W. G.; BELL, M. J. V.; ANJOS, V.C.; FURTADO, M. A. M.; **Uso de medidas de condutividade elétrica para a detecção de adição de água, cloreto de sódio e soda cáustica no leite**. *Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”*, Jul/Ago, nº 375, 65, 11-17, 2010.

NASCIMENTO, W. W. G., SOUZA, M.P.F.; VALENTE, A.C.M., FURTADO, M. A. M., ANJOS, V. C., & BELL, M. J. V.; Results from portable and of low cost equipment developed for detection of milk adulterations. *Food Sci. Technol*, Campinas, 37(Special issue): 38-41, Dec. 2017

NEGRI, L. M. **Estúdio de los factores fisicoquímicos de La leche cruda que inciden sobre La estabilidad térmica**. 2002. 169f. Tesis (Magister em Ciência y Tecnología de los Alimentos) Facultad de Ingeniería Química, Argentina, 2002.

NETO, J. R. M. A.; SANTOS, G. M.; ARROYO, R. J. O.; SOUSA, V. O.; FERREIRA, A. M. Sustentabilidade da pequena propriedade leiteira. 2013. **Acervo online FAA/CESVA**. Disponível em:

<http://faa.edu.br/revistas/docs/RID/2013/RID_2013_27.pdf>. Acesso em: 30 de Novembro de 2017.

OLIVEIRA, Carlos A. F.; FONSECA, Luís F. L.; GERMANO, Pedro M. L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**; v. 13, n° 62, junho 1999, p. 11-12

OLIVEIRA, M. D. S. dos; MORAES, C. M. de; ROOS, T. B.; BERMUDEZ, R. F.; TIMM, C. D. Ocorrência de leite com instabilidade da caseína em Santa Vitória do Palmar, RS. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 14, n. 2, p. 101-104, 2007.

ORDÓÑEZ, J. A.; et al. **Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005. 279p.

PEREDA, J. A. O. et al. **Tecnologia de alimentos**. v.2. Traduzido por Fátima Murrad. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PEREIRA, Danielle Braga Chelini; SILVA, Paulo Henrique Fonseca da; COSTA Júnior, Luiz Carlos Gonçalves; OLIVEIRA, Luciana Leal de. Físico-química do leite e derivados - Métodos Analíticos. 2. ed. rev. Ampl. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora Ltda, EPAMIG. 2001.

PHILIPPI, Sonia Tucunduva. *Nutrição e técnica dietética*. 2. ed. Barueri, SP: Manole, 2006.

PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. *Vencendo a luta contra a mastite*. Ed. Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002.

PONSANO, E.H.G. et al. Avaliação da qualidade de amostras de leite cru comercializado no município de Araçatuba e potenciais riscos decorrentes de seu consumo. *Higiene Alimentar, Mirandópolis*. v. 15, n. 86, p. 31-38, 2001.

PRATES, Ênio R. et. al. *Novos Desafios para a Produção Leiteira do Rio Grande do Sul*. In: 2º ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2000, Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000, p. 73-98.

REZER, A. P. S. *Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul*. 2010. 120p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

RIBEIRO, Ana Beatriz. *AVALIAÇÃO DO DIAGNÓSTICO POR CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DO LEITE FRENTE AOS MÉTODOS TRADICIONAIS DE DETECÇÃO DE MASTITE SUBCLÍNICA BOVINA*. Londrina, 2014. Disponível em: <<https://s3.amazonaws.com/pgsskrotondissertacoes/e9c7d72e242551e49df1b82dc918ebf3.pdf>> Acesso em: 21 de outubro de 2017.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. *Microrganismos patogênicos e a qualidade do leite*. In: **Curso Online de Monitoramento da Qualidade do Leite. 2007. Disponível em**<<http://www.unitins.br/ates/arquivos/Pecu%C3%A1ria/Bovinocultura/Bovinocultura>

%20de%20Leite/Qualidade%20do%20Leite%20%20Curso/Qualidade%20do%20Leite%20-%204.pdf>Acesso em: 21 de novembro de 2017.

SANTOS, J.L.F. RODRIGUES, J.F. Controle da Qualidade de Alimentos e Saúde Pública. 2008. Disponível em <<http://www.biblioteca.sebrae.com.br>>Acesso em: 10 de novembro de 2017.

SILVA, M. C. D.; SILVA, J. V. L.; RAMOS, A. C. S.; MELO, R. O.; OLIVEIRA, J. O. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Campinas, 28(1): 226-230, jan.-mar. 2008.

SILVA, Paulo Henrique Fonseca. Leite: Aspectos de Composição e Propriedades. Originalmente publicado em Química Nova na Escola, n. 6, novembro 1997.

SOUZA, L.G. SANTOS, G.T.; SAKAGUTI, E.S. Avaliação da composição do leite UHT proveniente de dois laticínios das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná. Acta Scientiarum. Animal Sciences, v.26, n.2, 2004.

SOUZA, S. S.; CRUZ, A. G.; WALTER, E. H. M.; FARIA, J. A. F.; CELEGHINI, R. M. S.; FERREIRA, M. M. C.; GRANATO, D.; SANT'ANA, A. S. Monitoring the authenticity of Brazilian UHT milk: A chemometric approach. Food Chemistry, v. 124, p. 692-695, 2011.

TOMBINI, H.; DALLACOSTA, M. C.; BLEIL, R. A. T.; ROMAN, J. A. **Consumo de leite de vaca entre agricultores**. Alim. Nutr., Araraquara, v. 23, n. 2, p. 267-274, abr./jun2012. Disponível: <<http://servbib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/2013/1249>>. Acesso: 31 de novembro de 2017.

TRONCO, Vânia Maria. Manual para inspeção da qualidade do leite. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2008.

VALLIN V.M, BELOTI V., BATTAGLINI A.P.P, TAMANINI R., FAGNANI R., ANGELA H.L., SILVA L.C.C. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. Semin Cienc Agrar. 2009; 30(1):181-8.

VALSECHI, O. A. O leite e seus derivados. Tecnologia de Produtos Agrícolas de Origem Animal. 2001. 36f. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2001.

Disponível em: <<http://www.cca.ufscar.br/~vico/O%20LEITE%20E%20SEUS%20DERIVADOS.pdf>>. Acesso em: 16 de Novembro de 2017.

VERAS, J. F.; RAPINI, L. S.; COUTO, I. P.; MENDONÇA, A. H. de ; SILVA, A. C. O.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R. DE; PENA, C. F. A. M. Monitoramento de qualidade do leite cru e da higienização de tetos, equipamentos e utensílios. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 57, n. 327, p. 307-311, 2002.

ZANELA, M.B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do Sul, ocorrência e indução experimental do leite instável não ácido (LINA)**. 2004. 150p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ZANINELLI, M., TANGORRA, F.M., Development and testing of a “free-flow”conductimetric milk meter. *Computers and Electronics in Agriculture*, v.57, pp 166–176, july 2007.

ZOCHE, F.; et al., Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na região oeste do Paraná. *Archives of Veterinary Science*, Curitiba, v.7, n.2, p. 59-67, 2002.