

UNIVERSIDADE BRASIL

**MARCELA DO REGO BARROS
RODRIGUES DE AZEVEDO**

**PRINCIPAIS MÉTODOS DE ANÁLISES REALIZADOS COM A FINALIDADE DE
VERIFICAR A QUALIDADE DO LEITE**

**São Paulo
2017**

**MARCELA DO REGO BARROS
RODRIGUES DE AZEVEDO**

**PRINCIPAIS MÉTODOS DE ANÁLISES REALIZADOS COMA FINALIDADE DE
VERIFICAR A QUALIDADE DO LEITE**

Trabalho monográfico de Higiene e Inspeção em Produtos de Origem Animal - Qualittas (TCC), apresentado à Universidade Brasil como requisito parcial para obtenção do título de pós-graduação lato sensu em Higiene e Inspeção em Produtos de Origem Animal.

Orientação: Profa. Dra. Marta Maria B. B. S. Xavier.

**São Paulo
2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).**

A988p AZEVEDO, Marcela do Rego Barros Rodrigues de.

Principais métodos de análises realizados com a finalidade de verificar a qualidade do leite / Marcela do Rego Barros Rodrigues de Azevedo. – São Paulo: Universidade Brasil, 2017.

38 f.: il.

Trabalho monográfico (TCC), apresentado à Universidade Brasil como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal.

Orientação: Profa. Dra. Marta Maria B. B. S. Xavier.

1. Leite. 2. Análises. 3. Inspeção sanitária. 4. Saúde coletiva. I. Xavier, Marta Maria B. B. S. II. Título.

CDD 637.127

AGRADECIMENTOS

Inicialmente a Deus, por estar sempre a me iluminar e me dar a capacidade de sonhar e conquistar meus sonhos.

Aos meus pais, Rosangela e Carlos Alberto Rodrigues de Azevedo, que me educaram e me deram todas as oportunidades para que eu alcançasse meus objetivos, com muito amor, dedicação, paciência, companheirismo e sempre me dando exemplos a serem seguidos.

Ao meu noivo, Carlo Aurélio, que com amor, carinho, paciência, apoio, incentivo, parceria, brincadeiras e compreensão, me faz uma pessoa mais forte.

À minha orientadora Professora Dra. Marta Maria B. Baptista S. Xavier, Médica Veterinária com muito amor, que dispôs de seu tempo, conhecimento e carinho, a me ensinar e orientar nesse trabalho.

Aos mestres, que se dedicaram a nos ensinar o que era preciso saber para seguir em frente, repassando da melhor forma seus conhecimentos.

Às demais pessoas, que participaram dessa conquista, mesmo que em pequena parcela.

RESUMO

O leite é considerado um alimento completo, de acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) deve ser de animais saudáveis e a qualidade deve ser preservada da ordenha ao beneficiamento (BRASIL, 2017). Para isso, é necessário estabelecer um controle efetivo da mastite no rebanho, ter boas práticas de ordenha para obtenção do leite de forma higiênica, realizar a manutenção preventiva e a limpeza correta dos equipamentos, fornecer o resfriamento adequado ao leite e garantir o transporte atendendo as exigências e padrões estabelecidos na legislação. O presente estudo vem elucidar as principais análises pelas quais o leite é testado nos estabelecimentos beneficiadores inspecionados pelo Serviço de Inspeção Federal, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SIF/MAPA). Os parâmetros físico-químicos e microbiológicos do leite cru bovino foram rastreados com o intuito de estabelecer a qualidade com a qual o leite cru deve chegar ao estabelecimento beneficiador, segundo a Instrução Normativa nº. 62 (BRASIL, 2011). As análises citadas são: extrato seco total; prova do alizarol; concentração de gordura do leite; ponto de congelamento; densidade; acidez; contagem de células somáticas; temperatura; teste Dornic; teor de sólidos não gordurosos; contagem bacteriana total; e teste do azul de metileno. Tais análises são de grande importância tanto para o conhecimento da qualidade do leite quanto para garantir lucros à indústria, visando à certeza de o produto ser entregue de forma integral e inalterada. Verificou-se, em pesquisas de revisão bibliográfica, que os valores médios das análises atendem às especificações da IN nº. 62 na maioria dos estabelecimentos, o que indica que o Brasil é capaz de melhorar a qualidade do leite, quando assim exigido. A não conformidade de algumas amostras em vários estabelecimentos, entretanto, evidencia a necessidade de uma maior atenção com a higiene na ordenha e armazenamento e, também, com a saúde dos animais, e principalmente falha na fiscalização pois este tipo de alimento é difundido nas faixas etárias de risco e sendo capaz de difundir microrganismos de relevância à saúde coletiva.

Palavras-chave: Leite. Análises. Qualidade. Inspeção Sanitária. Saúde Coletiva.

ABSTRACT

Milk is considered a complete food, according to the Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). must be from healthy animals and quality must be preserved from milking to processing (BRASIL, 2017). To do this, it is necessary to establish an effective control of mastitis in the herd, to have good milking practices to obtain milk in a hygienic way, to perform preventive maintenance and correct cleaning of the equipment, to provide adequate milk cooling and to ensure transportation taking into account the requirements and standards. The present study elucidates the main analyzes by which milk is tested in the beneficiary establishments inspected by Serviço de Inspeção Federal, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SIF/MAPA).The physico-chemical and microbiological parameters of bovine raw milk were screened in order to establish the quality with which the raw milk must reach the breeding establishment, according to Normative Instruction no. 62 (BRAZIL, 2011). The analyzed analyzes are: total dry extract; alizarol test; milk fat concentration; freezing point; density; acidity; somatic cell counting; temperature; Dornic test; non-greasy solids content; total bacterial count; and methylene blue test. Such analyzes are of great importance both to know the quality of the milk and to guarantee profits to the industry, aiming at the certainty of the product being delivered integrally and unchanged. It was verified, in literature review, that the average values of the analyzes meet the specifications of IN nº. 62 in most establishments, which indicates that Brazil can improve the quality of milk when so required. The lack of conformity of some samples in several establishments, however, evidences the need for a greater attention with the hygiene in the milking and storage and, also, with the health of the animals, and mainly failure in the fiscalization because this type of food is diffused in the bands and being able to disseminate microorganisms of relevance to collective health.

Key-words: Milk. Analyzes. Quality. Sanitary Inspection. Public Health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Disco de Ackerman.....	11
Figura 2: Resultados da acidez observados na prova do Alizarol	12
Figura 3: Resultados da gordura observados no Butirômetro de Gerber.....	14
Figura 4: Aparelho para realizar a Crioscopia eletrônica	15
Figura 5: Verificação da densidade do leite através do Termolactodensímetro.....	18
Figura 6: CMT realizado no leite cru	18
Figura 7: Contador automático de células somáticas	20
Figura 8: temperatura do leite no tanque de resfriamento	21
Figura 9: Graus Dornic obtidos através da acidez titulável	22
Figura 10: Contagem bacteriana no leite cru apresentando resultados incontáveis..	25
Figura 11: Prova da Redutase no leite cru.....	25

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1	Nutrientes do Leite	9
2.2	Principais Provas de Qualidade do Leite	10
2.2.1	Extrato Seco Total.....	10
2.2.2	Prova do Alizarol	11
2.2.3	Concentração de Gordura do Leite.....	13
2.2.4	Ponto de Congelamento do Leite	15
2.2.5	Densidade do Leite	17
2.2.6	Acidez do Leite Fresco Recém Ordenhado	18
2.2.7	Contagem de Células Somáticas (CCS).....	18
2.2.8	Temperatura.....	21
2.2.9	Teste Dornic.....	22
2.2.10	Teor de Sólidos Não Gordurosos.....	23
2.3	Microbiologia do leite e suas principais provas	24
2.3.1	Contagem Bacteriana Total	24
2.3.2	Teste do Azul de Metileno	26
3	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a qualidade do leite cru é o principal fator determinante para a sua qualidade e dos seus produtos derivados. Para que o leite cru seja de boa qualidade, este não pode conter resíduos nem sedimentos, tão pouco ser insípido ou conter odores anormais, deve ter baixo teor de bactérias, não deve conter vestígios de antibióticos ou detergentes (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA, 2014).

O constante crescimento populacional em todo mundo faz com que a produtividade seja mais exigida a todo momento corroborando com a síntese que a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura) publicou seu relatório de 2010 demonstrando um crescimento de 5,7% no comércio internacional de produtos lácteos chegando a 46 milhões de toneladas de leite.

O Ministério da Saúde recomenda um consumo de 146 litros/leite/ano para cada pessoa, porém, o consumo médio de leite dos brasileiros ainda fica a abaixo do recomendado, sendo consumidos 130 litros/ano (OHI et al., 2010).

Em 2004, com início das exportações de lácteos no país, houve um aumento da produtividade devido à adoção de novas tecnologias e consequente melhoria da cadeia produtiva aliados ao cenário financeiro favorável (CARVALHO, 2010).

Assim, o Brasil deixou de ser visto como um país importador e passou a assumir a posição de exportador (PEREIRA, 2001).

No entanto esta afirmação tem caráter inconstante, por sofrer variações no cenário lácteo brasileiro constantemente, mas em sua maioria são obtidos resultados positivos em relação ao setor (SILVA, 2015).

O agronegócio Brasileiro de setor lácteo tem muitas condições para prosperar cada vez mais, desde que sejam solucionados problemas ligados a produção, profissionalização, qualidade, transporte e industrialização (NOGUEIRA, 2011).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) entendeu a necessidade de criar a Instrução Normativa nº. 51 devido a necessidade de melhoramento e modernização da legislação sanitária federal pensando no coletivo leiteiro do país. A legislação supracitada veio para gerenciar os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, B, C, do pasteurizado e leite cru

refrigerado, e também o regulamento técnico para coleta do leite cru refrigerado e o transporte a granel (BRASIL, 2002).

Com esta atitude o governo vislumbrou a melhora da qualidade do leite e obtenção de um meio de ganhar mercados mais exigentes, como o estrangeiro. Anos após a criação da IN nº. 51 a IN nº. 62 foi criada para alterá-la, pois as mudanças estipuladas na IN nº. 51 não aconteceram pela dificuldade dos produtores em se adaptar a legislação no tempo estipulado. Passando a vigorar em 1 de janeiro de 2012 a IN nº. 62 (GUERRA, 2012).

Outros países frequentemente se mostram muito mais exigentes quanto ao aspecto de qualidade do leite se comparado a qualidade do leite brasileiro. O que vem a acarretar um menor tempo de vida útil nos postos de venda, menor rendimento industrial dos seus derivados, menor qualidade de produto final (CARVALHO, 2010).

A necessidade de programar medidas para melhorar a qualidade do leite no país, motivou a elaboração do Plano Nacional da Qualidade do Leite (PNQL), iniciativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e com o poio de órgãos de ensino e pesquisa [] (DURR et al., 2004; SANTOS et al, 2006)

O PNQL tem como meta a regulamentação técnica da identidade de qualidade de vários tipos de leites. Tendo como objetivos do programa: promover a melhoria da qualidade do leite e derivados, garantindo a saúde da população e aumentando a competitividade dos produtos lácteos em mercados mais exigentes (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2014).

Além das análises feitas antes da IN nº. 51 (BRASIL, 2002), passou a ser abordada também a imposição de limites para itens como: avaliação da qualidade do leite como, composição do leite, contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT) e análise de resíduos. Então o MAPA criou a RBQL (Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite), responsáveis pela avaliação dessas amostras mensalmente (BRASIL, 2011).

Portanto, este trabalho teve como objetivo abordar as principais análises utilizadas nas indústrias, no que diz respeito ao controle da qualidade do leite em estabelecimentos fiscalizados pelo serviço de inspeção federal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nutrientes do Leite

O leite para consumo humano tem uma composição predeterminada e por tanto para ser comercializados por estabelecimentos inspecionados pelos órgãos de fiscalização a composição de qualidade nutricional e aptidão para o processamento e consumo humano deve seguir este padrão: Um litro de leite de vaca deve ter uma composição média com: água (87,3%), gordura (3,3%), lactose (4,9%), proteínas (3,3%) e minerais (0,9%). A água é o componente em maior quantidade, no qual estão emulsificados, dispersos ou dissolvidos o restante dos componentes (PEREIRA et al., 2001; TRONCO, 2010).

O leite *in natura* é composto por: 3,2% de proteínas, 4,6 de lactose, 87% de água, 3,9% de gordura, 0,9% de minerais e vitaminas. Variando a proporção dos componentes de acordo com: manejo nutricional e produtivo (tipo e intervalo entre as ordenhas, a fase de lactação e a raça do animal (OHI et al., 2012).

Pela união destes componentes o leite sempre esteve presente na alimentação do ser humano, por ter a composição equilibrada e nutrientes variados ele faz com que especialistas da área alimentícia o considere um dos alimentos *in natura* mais completos existentes para a alimentação humana (TRONCO, 2011).

O leite possui um carboidrato característico, chamado lactose. A lactose é composta por duas partes: glicose e galactose, sendo o componente do leite que sofre menos variações. Processos térmicos em que o leite é submetido vêm a acarretar o escurecimento do mesmo a partir da lactose, sendo chamado de reação de Maillard. Quando ocorre esta reação há uma diminuição dos valores nutricionais do leite, que diminuem cada vez mais à medida em que a intensidade e o tempo de aquecimento aumentam (PEREIRA et al., 2001).

O leite possui muitos minerais, sendo os principais: cálcio, cloro, fósforo, magnésio, potássio e sódio. Como mineral de maior relevância, presente no leite, para a saúde humana temos o cálcio, que é indispensável para a formação do sistema ósseo dos mamíferos. O cálcio se encontra juntamente com o fósforo, ligados à caseína essa ligação ganha o nome de complexo fosfocaseinato de cálcio. Para a

manutenção da estabilidade da caseína é fundamental a associação entre os minerais e as proteínas do leite (SILVA, 2010; TRONCO, 2010).

A gordura do leite se apresenta em pequenas esferas denominadas de glóbulos, formado principalmente por triglicerídeos (97-98%), ácidos graxos livres, esteroides e fosfolípidios. A gordura é de toda a composição a parte que mais sofre variação quando relacionada à alimentação, estação do ano período de lactação e raça. Os glóbulos de gordura são envolvidos por uma membrana proteica na qual está associada fosfolípidios, proteínas e outras substâncias como, vitaminas (A, D, E e K) e algumas enzimas (SILVA, 2010).

Vários componentes nitrogenados compõem o leite bovino, 95% deles ocorrem na forma de proteínas e apenas 5% na forma de compostos não-proteicos. Os soros do leite também possuem proteínas e estas são formadas por: Albuminas, alfa-lactalbumina, beta-lactalbumina, imunoglobulinas e peptonas. A composição e a distribuição das frações nitrogenadas sofrem variações de acordo com: estágio da lactação, número de parições, alimentação, doenças, raça e temperatura no ambiente (TRONCO, 2010).

Catalase, fosfatase, lipase, peroxidase, proteinases, e oxido-redutase são as principais enzimas do leite. Além das enzimas naturais do leite também podemos encontrar enzimas pertencentes à microrganismos presentes no leite, no entanto não sendo inicialmente do leite. A atividade enzimática é diretamente influenciada por condições do meio ambiente (temperatura e PH) e também influenciada pelos processos tecnológicos (PEREIRA et al., 2001).

O leite possui todas as vitaminas hidrossolúveis (B e C) e lipossolúveis (A, D, e e K) entretanto são geralmente encontradas em pequenas quantidades (TRONCO, 2010).

2.2 Principais Provas de Qualidade do Leite

2.2.1 Extrato Seco Total

Há diversas formas de determinar os conteúdos sólidos totais do leite. Podendo ser usados métodos diretos ou indiretos para a conclusão do teste na amostra. Os métodos diretos são: micro-ondas, refratométrico e o gravimétrico. E os métodos

indiretos apresentam o uso de fórmulas ou instrumentos que mensuram a quantidade da matéria seca na amostra. A definição da matéria seca total também conhecido como extrato seco total (EST) está fundamentada na quantificação de todos os componentes do leite exceto a água (TRONCO, 2010).

A forma mais utilizada para determinação do extrato seco total tem sido o método indireto pelo disco de Ackerman (Figura 1). Este método consiste em utilizar um disco de alumínio graduado, composto por dois discos sobrepostos com graduação, da porcentagem de matéria seca, valores de densidade e da porcentagem de gordura. Ao se obter os valores da densidade e a porcentagem de gordura da amostra, ajustam-se os discos e então o ponteiro indicará o valor do extrato seco total (TRONCO, 2010).

Figura 1: Disco de Ackerman. Fonte: Xavier (2016).



De acordo com a Instrução Normativa nº. 62 (BRASIL, 2011), o mínimo aceitável é 11,5g/ 100g de extrato seco total.

Segundo Ribas e colaboradores (2004) citaram que 26,9% das 257,540 amostras apresentaram o EST entre 12,1 e 12,5% e no estudo de Mattos et al. (2010) 13% das 53 das amostras colhidas na região Agreste de Pernambuco apresentaram valores menores que 11,4%.

2.2.2 Prova do Alizarol

A prova do alizarol é uma das formas mais simples e rápidas para determinar a acidez do leite durante a coleta na propriedade e também na recepção na indústria. A

técnica consiste em transferir para um tubo de ensaio 2 ml de leite e 2 ml de solução de alizarol a 72 a 76% e misturar cuidadosamente (PEREIRA et al., 2001).

A leitura dos resultados (Figura 2) é feita da seguinte forma: a coloração pardo-avermelhada sem coagulação indica leite normal; coloração amarelada com coagulação, leite ácido; e coloração violeta indica leite alcalinizado (PEGORARO,2009)

A prova do Alizarol possibilita a determinação rápida e aproximada da acidez do leite por colorimetria (TRONCO, 2010).

Figura 2: Resultados da acidez observados na prova do Alizarol.



Fonte: Xavier (2016)

Sendo este teste é similar ao teste do álcool, entretanto é utilizado de forma conjunta ao teste do Alizarol um indicador de pH (alizarina), que é capaz de permitir avaliar o pH da amostra. O que possibilita a diferenciação entre a amostra com desequilíbrio salino da amostra com acidez excessiva (PEREIRA et al., 2001).

De acordo com a Instrução Normativa nº. 62 fica estabelecido que o leite após aplicação do alizarol a 72% ou 76% deve permanecer estável, e que esta análise deve ser realizada em amostra colhida e testada separadamente à cada tanque de resfriamento, antes de ser transferida ao caminhão isotérmico para o transporte ao destino de processamento (BRASIL, 2011).

Por vezes encontra-se leite que apresentam instabilidade na caseína, frente a prova do álcool e alizarol, sem, no entanto, apresentar acidez acima de 18° D (Grau Dornic), vindo a receber o nome popular de leite LINA (Leite Instável Não Ácido). As causas para a ocorrência do leite LINA ainda não são bem esclarecidas, no entanto,

várias pesquisas apontam a deficiência alimentar das vacas como uma das mais prováveis causas responsáveis para tal efeito (MARQUES, 2007; ZANELA et al., 2006).

Marques et al. (2007) em um estudo realizado na cidade de Pelotas-RS, constataram que 58% das 9.892 das amostras eram do tipo LINA. A maior parte da ocorrência deste tipo de leite foi no outono, período onde geralmente ocorre maior escassez de alimentos naquela região, chegando a conclusão que também há influência das variações sazonais sobre a ocorrência do LINA.

Zanela et al. (2009) em estudo sobre a ocorrência do leite LINA no Estado do Rio Grande do Sul verificaram que 55% das 2.396 das amostras tinham a instabilidade à caseína comprovadas, sendo que a prevalência deste tipo de leite está ligada a variações sazonais, ocorrendo principalmente no final do verão e início do outono.

2.2.3 Concentração de Gordura do Leite

Existem vários métodos para determinar o teor de gordura no leite, tais como: métodos instrumentais, volumétricos, gravimétricos e eletrônicos (TRONCO, 2010).

O ser humano sempre valorizou a gordura do leite e por tanto muitas indústrias e cooperativas resolveram bonificar o estabelecimento onde o leite tem um bom teor de gordura. A concentração de gordura no leite integral varia de 3,5 a 5,3%, sendo este um dos critérios de qualificação do leite e até mesmo de pagamento por qualidade aos produtores pelas indústrias (OHI et al, 2010).

O índice de gordura do leite pode ser influenciado por: nutrição, genética e sanidade da glândula mamária do animal (SANTOS, FONSECA, 2007).

Vargas et al. (2002) em estudos realizados na cidade de Viçosa-MG, concluíram que a inclusão de várias fontes de lipídeos não causa alterações na porcentagem de gordura do leite.

Apoiando este estudo temos o estudo feito por Duarte (2005) que está de acordo com Vargas no que diz respeito à adição de diferentes lipídeos na alimentação de bovinos.

O Método eletrônico é o mais empregado nas indústrias, entretanto existe outro amplamente utilizado também, o método volumétrico de Gerber (Figura 3). Este consiste na adição de 10mL de ácido sulfúrico no Butirômetro de Gerber seguido da

adição lenta de 11mL da amostra e no final adiciona-se 1mL de álcool isoamílico; tampa-se o Butirômetro e mistura-se o conteúdo até que haja uma mistura homogeneia; colocando o Butirômetro em banho-maria a 65-70°C por 2-3 minutos e após este processo coloca-se em uma centrifuga na velocidade de 1.100-1.200rpm por 5 minutos e realiza-se a leitura diretamente na haste do Butirômetro (CHAPAVAL, PIEKARSKI,2000; TRONCO, 2010).

Figura 3: Resultados da gordura observados no Butirômetro de Gerber.



Fonte: Xavier (2016).

Onde ao final do processo a amostra de leite cru refrigerado recebido em estabelecimento sob SIF, segundo a IN nº. 62, deve ter no mínimo 3% de gordura (BRASIL,2011).

Mattos et al. (2010) verificaram que 6% das 53 amostras estavam fora dos padrões estabelecidos para gordura segundo a IN nº. 62.

Zanela et al. (2006) constataram que 28% das 100 amostras estavam abaixo do padrão da legislação, na região sul do Rio Grande do Sul.

De acordo com Caldeira e outros (2010) na região de Janaúba-MG, apenas 5% das 30 amostras estavam fora do padrão.

Rangel et al. (2009) concluíram que a medida que aumentou a quantidade de CCS (Contagem de Células Somáticas) também causou o aumento no teor de gordura, atribuindo este resultado a infecção da glândula mamária e questionando a sanidade na produção de leite. Machado e outros (2001), concluíram que houve um aumento na porcentagem de gordura apenas quando relacionada com o aumento de CCS,

estando este episódio ligado ao fato, de que a redução na produção de leite é causada pela infecção da glândula mamaria.

Bueno et al. (2005) também encontraram correlação entre o aumento de gordura e o aumento de CCS, entretanto atribuem esse fato ao tipo de dieta desses animais (presença de fibras e gorduras insaturadas).

2.2.4 Ponto de Congelamento do Leite

O leite obtém o ponto de congelamento menor que o da água, ou seja, abaixo de 0°C, isso ocorre pelo fato de o tempo de congelamento ser influenciado pelos componentes do leite, tais como: lactose, sais minerais, algumas proteínas e gases dissolvidos (PEGORARO, 2009).

O ponto de congelamento do leite, chama-se Crioscopia ou índice crioscópico (Figura 4) e é um teste feito para determinar o ponto exato em que o leite é capaz de congelar. A obtenção do ponto de congelamento foi realizada inicialmente por Crioscopia manual, porém com o passar do tempo e o surgimento de novos equipamentos, atualmente é empregado pelas indústrias e laboratórios o uso da Crioscopia eletrônica (TRONCO, 2010).

Figura 4: Aparelho para realizar a Crioscopia eletrônica.



Fonte: Xavier (2016).

Obtendo então o conhecimento do ponto de Crioscopia de leite tornou-se, portanto, a forma mais utilizada pelos laticínios para definir uma provável fraude por adição de água ao leite. Quando é identificada uma amostra fraudada, o índice crioscópico da amostra passa a ser próximo de zero H° (Grau Hortvet, escala adotada internacionalmente), ou seja, se aproxima do ponto de congelamento da água. Este artifício utilizado pelos produtores traz inúmeros prejuízos às indústrias tais como: diminuição do valor da matéria prima e rendimento de fabricação de derivados, contribuição para contaminação por microrganismos e a elevação dos custos em relação ao transporte e energia utilizados pela empresa (PEREIRA et al., 2001; BRASIL, 2011).

No entanto como o leite é uma substância constantemente mutável por ser dependente do animal que a produz, ele pode sofrer leves alterações no seu ponto de congelamento por variações em decorrência da alimentação, raça, estação do ano, latitude, clima período de lactação, doenças dos animais, e estado de conservação do leite (TRONCO, 2010).

Em estudos Martins et al. (2008) puderam observar na região de Pelotas-RS, ocorrência de variação nos valores de Crioscopia quando correlacionado aos meses do ano. Porém em um dos trabalhos feitos por Gonzalez (2004) demonstrou que não houve mudanças significativas nos resultados da Crioscopia quando analisada em relação aos meses do ano, na mesma região de Pelotas-RS, o que vem a não corroborar para a afirmativa supracitada por Tronco (2008) e Martins et al. (2010).

Internacionalmente o ponto crioscópico é representado em graus Hortvet (°H), porém também podendo ser representado em graus Celsius (°C) estando ambas correlacionados pelas seguintes fórmulas matemáticas com fator de correção: $^{\circ}H=1,03562 \times ^{\circ}C$ e $C^{\circ}=10,9656 \times ^{\circ}H$ (PEREIRA et al., 2001; TRONCO, 2010).

A Instrução Normativa nº. 62 estabelece o valor padrão do leite em relação à Crioscopia que varia de -0,530 a -0550 Hortvet (°H) (BRASIL, 2011).

A fraude por adição de água não é algo muito utilizado, visto que facilmente a alteração ao leite é desmascarada, no entanto ainda há aqueles que insistem nesta adulteração mesmo com a tendência de aparecer nos resultados dos testes. Fagan et al. (2008) afirmaram em pesquisa realizada na região de Leopólis e Londrina-PR que 100% das 80 amostras analisadas alcançavam valores ideais.

Rosa; Queiroz (2007) afirmam que 90% das 20 amostras coletadas no

município de Canguçu-RS atingiram os requisitos exigidos pela IN nº. 62, ou seja, inferior a $-0,530 \text{ }^{\circ}\text{H}$, evidenciando então a não adulteração por adição de água.

Entretanto, Caldeira et al. (2010) observaram, que 57% das 30 amostras coletadas no município de Janaína-MG estavam fora do padrão estabelecido pela legislação vigente no Brasil desde 2002 na antiga IN nº. 51, sendo assim detectadas por adição de água.

2.2.5 Densidade do Leite

De acordo com a Instrução Normativa nº. 62, a densidade relativa para o leite cru refrigerado pode variar de 1,028 a 1,034 g/ml a 15°C (BRASIL, 2011).

A determinação da densidade de uma amostra de leite é baseada no princípio de Arquimedes: "Todo corpo mergulhado em fluido recebe um empuxo vertical, de baixo para cima, igual à massa do fluido deslocado pelo corpo" (PEREIRA et al., 2001).

Fazer a análise de densidade do leite é importante, pois permite a identificação do leite fraudado através da adição de água, porém não apenas esta fraude como também a de retirada integral ou parcial da gordura do leite nas propriedades, e além de nos fornecer informações importantes para a detecção do extrato seco total. Quando o leite é fraudado por adição de água a densidade da amostra é diminuída, entretanto, se ocorrer desnatação parcial ou total previamente na propriedade ocorrerá o aumento da densidade na amostra (SANTOS; FONSECA, 2007).

A densidade do leite é conferida em laticínios de forma rotineira pois é um teste simples e rápido. A temperatura da amostra no momento da análise deve ser de 15°C , sendo utilizado para aferir a densidade de uma amostra de leite um termolactodensímetro (Figura 5) e uma proveta com capacidade de 250mL. Então transfere-se para esta proveta aproximadamente 250mL de leite de modo lento, evitando a formação de espuma. Após a estabilização do termolactodensímetro anota-se a temperatura e a densidade lida. (TRONCO, 2010).

Porém pode-se constatar que este tipo de fraude não é de caráter comum, ocorrendo apenas em pequenas quantidades. Beloti et al. (2011) observam que 9,7% das 103 amostras tinham densidade inadequada, e Mattos et al. (2010) observaram que apenas 1,8% das 53 amostras coletadas na região Agreste de Pernambuco estavam fora dos padrões estabelecidos como padrões adequados pelo MAPA.

Figura 5: Verificação da densidade do leite através do Termolactodensímetro.



Fonte: Xavier (2016).

2.2.6 Acidez do Leite Fresco Recém Ordenhado

O teste de acidez é uma das determinações mais comumente usadas para o controle de qualidade de leite e derivados. Existem diferentes formas de determinar a acidez do leite dentre elas podemos citar: prova do álcool, teste do alizarol, análise de Dornic (Figura 9) e determinação do pH (CHAPAVAL, PIEKARSKI, 2000).

O leite fresco recém ordenhado, apresenta pH entre 6,6- 6,8. Esse pH faz com que ele seja caracterizado como um alimento ligeiramente ácido. A acidez é natural e devido a substâncias como: albumina, caseína, citrato, dióxido de carbono e fosfato. O leite ordenhado de forma não higiênica e que não passou pelo processo de refrigeração adequado, permite o crescimento de bactérias fermentadoras de lactose que causam um aumento de ácido no leite (ao consumirem a lactose), resultando na acidez adquirida, como é chamado este processo. A acidez adquirida somada à acidez natural dará origem à acidez titulável do leite (SANTOS, FONSECA, 2007)

2.2.7 Contagem de Células Somáticas (CCS)

As células somáticas no leite são o conjunto de células de origem do sangue (linfócitos, macrófagos e neutrófilos) e células epiteliais de descamação da própria

glândula mamária presentes no leite (SANTOS, FONSECA, 2007).

A implantação de normas nacionais para limites máximos de CCS do leite é influenciada por uma tendência mundial em busca de obter cada vez a maior qualidade da matéria-prima do leite e dos produtos lácteos. A CCS é estimada como critério de avaliação para a qualidade do leite cru (Figura 6), sendo utilizado pelos laboratórios do MAPA o método de contagem eletrônica (Figura 7) (BOZO et al, 2013).

Figura 6: CMT realizado no leite cru.



Fonte: Xavier (2016).

A partir do ano de 1992, países desenvolvidos como Nova Zelândia , Austrália, Canada, EUA e toda a União Europeia passaram a implantar limites máximos para a CCS de rebanhos e também nos tanques de expansão, pois consideram ser cada análise é uma forma eficiente de avaliação do nível de Mastite subclínica do rebanho, de estimativas de perdas de produção do leite e indicador da qualidade do leite produzido, tornando-se análise confirmatória de leite inadequado para o consumo do ser humano e até mesmo de outros animais (SANTOS, FONSECA, 2007; TRONCO, 2010).

Segundo afirmativa feita por Bozo et al. (2013) a contagem eletrônica de células somáticas possui uma gama de vantagens, dentre elas: maior rapidez e precisão do que outros testes como usados difusamente como o “Wisconsin Mastitis Test” (WMT) e o “Califórnia Mastitis Test” (CMT). A amostra pode ser enviada a laboratórios credenciados para análise, no entanto, alguns fatores podem afetar a quantidade de CCS no leite, tais como: época do ano, estágio de lactação, nível de infecção da glândula mamária, idade da vaca e período da ordenha.

A vaca com infecção subclínica é menos produtiva em quantidade de litros de leite produzido, sendo um prejuízo ao produtor a não identificação da mesma rapidamente. O aumento dos números de CCS no leite, além de diminuir a quantidade de leite produzido pelo animal também reduz a concentração dos nutrientes do leite (gordura, caseína e lactose) (SANTOS; FONSECA, 2007).

Figura 7: Contador automático de células somáticas.



Fonte: <http://www.milkproduction.com/Library/Scientific-articles/Animal-health/Strategies-for-using/>

Bueno et al. (2005) e Lima et al. (2006) verificaram redução significativa no teor de proteína, lactose e conseqüentemente de sólidos totais, ao aumento de CCS.

Rangel et al. (2009) em Viçosa-MG encontraram resultados conflitante aos resultados de Bueno, pois eles encontraram relação positiva entre CCS e teor de gordura, lactose e extrato seco desengordurado, porém não encontraram variações nos teores de lactose.

Barbosa et al. (2007) através de trabalhos no Estado do Paraná puderam observar a correlação positiva entre o estágio de lactação e a quantidade de células somáticas, ou seja, a medida que avança o estágio de lactação aumenta a quantidade de CCS no leite.

Voltonili et al. (2001) observaram em Maringá-PR, que o estágio de lactação realmente influencia nos níveis de CCS no leite, pois constataram em estudos um aumento significativo nos valores de CCS no início e no final da lactação das vacas podendo estes dados serem associados ao fato do animal estar sob o efeito de estresse inerentes a estas fases.

A IN nº. 62 preconiza que a CCS de uma amostra de leite deva indubitavelmente ter o valor máximo de 600.000 CS/mL de leite no Sul e Sudeste e 400.000/ mL a partir de 2017. Para o Norte e Nordeste esses valores entram em vigor em 2013 e 2017 respectivamente (GUERRA, 2012; BRASIL, 2011).

Devendo ser esta análise realizada no mínimo uma vez por mês e sempre sob um laboratório credenciado pela RBLQ, independentemente de análises realizadas do mesmo leite por estabelecimentos beneficiadores (BRASIL, 2011).

2.2.8 Temperatura

Segundo a Instrução Normativa nº. 62 o leite cru refrigerado recebido em estabelecimento inspecionado pelo SIF deve estar com a temperatura de até 7°C. Porém na propriedade onde o leite é ordenhado este deve permanecer refrigerado a uma temperatura de no máximo 4°C (Figura 8) até e permanecer nesta temperatura até 3 horas após a ordenha (BRASIL,2011).

Figura 8: temperatura do leite no tanque de resfriamento.



Fonte: Xavier (2016).

Foi relatado em um estudo de Santos et al. (2009) na região de Goiânia-GO que o período de armazenamento influencia diretamente na quantidade presente de micro-organismos psicrófilos, pois a cada 24hs houve um aumento de 22% de 3UFC (Unidade Formadora de Colônias).

O armazenamento do leite cru sem seguir os padrões ideais implica no aparecimento de micro-organismos de natureza maléfica a saúde do ser humano, tendo como exemplo bactérias psicrófilas. As bactérias psicrófilas, têm a

característica de se desenvolver e proliferar mesmo em temperaturas consideradas baixas (7°C) sendo um ponto de limitação importante na qualidade do leite e de seus derivados, pois uma vez instalada a bactéria, mesmo sendo exterminada depois, suas enzimas ainda iram interferir na qualidade do leite visto que conseguem resistir ao processo de pasteurização (BOZO et al, 2013).

2.2.9 Teste Dornic

O objetivo do teste de Dornic (Figura 9) é detectar aumento na concentração de ácidos, possibilitando indicar a quantidade de micro-organismos inadequados na amostra, pois existem bactérias que têm a capacidade de produzir ácido lático e ácido pirúvico com a fermentação da lactose presente no leite, ocasionando com isso um aumento na acidez do leite (TRONCO, 2010).

Figura 9: Graus Dornic obtidos através da acidez titulável.



Fonte: Xavier (2016).

O teste Dornic é geralmente o mais utilizado nos postos de coleta para avaliar a acidez do leite, baseando-se na neutralização do ácido lático, até o ponto de equivalência, pelo hidróxido de sódio N/9 (solução Dornic), na presença de um indicador de pH (fenolftaleína). O teste Dornic tem caráter de análise quantitativa, porque permite determinar com exatidão a acidez do leite em titulometria (TRONCO, 2010; BOZO et al 2013).

Diversos fatores podem influenciar a titulação do grau de acidez do leite, como por exemplo: genética dos animais fornecedores de leite, sanidade da glândula mamária, atividade enzimática, composição do leite, hora da ordenha, fase de lactação e intervalo das ordenha (SANTOS, FONSECA, 2007; TRONCO, 2010).

O teste Dornic é de execução simples. A prática consiste em adicionar em um tubo de ensaio 10ml de amostra de leite e acrescentar 3 a 5 gotas de fenolftaleína e, logo após fazer a titulação da amostra com solução Dornic até que ela passe a demonstrar uma coloração ligeiramente rósea. Cada 0,1 mL de solução de Dornic gasto na titulação, corresponde a 1ºD e cada 1ºD corresponde a 0,1g/L de compostos ácidos expressos como ácido láctico" (TRONCO, 2010). A IN 62/2011, exige que a acidez titulável do leite cru refrigerado deve estar entre 14 a 18° D (BRASIL, 2011).

Langoni (2013) observou que o baixo valor de acidez titulável no leite está relacionado diretamente com a grande casuística de mastite em bovinos.

Zafalon et al. (2005) também observaram em seus estudos na região de São Paulo, que há uma tênue ligação entre os valores baixos de acidez titulável e a ocorrência de mastite no rebanho.

Caldeira et al. (2010) através de testes de Dornic concluíram que 50% das 30 amostras de leite cru refrigerado da região de Janaúba-MG estavam fora dos padrões pré-estabelecidos pela legislação, e concluíram que esta porcentagem de amostras inadequadas é devido a falta de boas condições de higiene ou de inadequada refrigeração.

2.2.10 Teor de Sólidos Não Gordurosos

É preconizado na IN nº. 62 que o leite cru refrigerado deve ter no mínimo 8,4g/100g de extrato seco desengordurado (BRASIL, 2011).

O exame do teor de sólidos não-gordurosos, também conhecido por extrato seco desengordurado (EDS, sigla em Inglês), refere-se à determinação da soma de todos os componentes do leite (proteína, lactose e minerais), exceto à água e gordura. Para que possa ser realizada essa análise é necessário estabelecer previamente dois parâmetros fundamentais: densidade e teor de gordura, para então subtraído o valor do EST (Extrato Seco Total) pela gordura (TRONCO,2010).

Aparentemente os valores de ESD não se alteram com diferentes quantidades de proteínas ou ureia na dieta fornecidas ao gado. De acordo com Pereira et al. (2001)

não houve influências no teor de extrato seco desengordurado quando comparado a diferentes tipos de proteínas na alimentação.

Aquino et al. (2007) também não encontraram diferenças significativas nos valores do ESD de animais que consumiram diferentes quantidades de ureia durante seus estudos realizados na cidade de São Paulo. Entretanto mesmo a quantidade de proteína e ureia não tendo muita influência no resultado do ESD, a raça pode influenciar.

Como Zanela et al. (2006) certificaram em estudos realizados na região Sul do Rio Grande do Sul, que a raça do gado pode modificar o resultado na porcentagem de ESD, pois puderam verificar que os animais da raça Jersey quando comparados com os da raça Holandesa mostraram uma porcentagem maior de teor de sólidos não-gordurosos. Encontraram 53,6% das 110 amostras coletadas na região do Rio Grande do Sul inadequadas aos parâmetros da legislação.

Caldeira et al. (2010) observaram que 17% das 30 amostras analisadas de leite cru refrigerado da região de Janaúba-MG estavam fora dos padrões físico-químicos estabelecidos pela legislação.

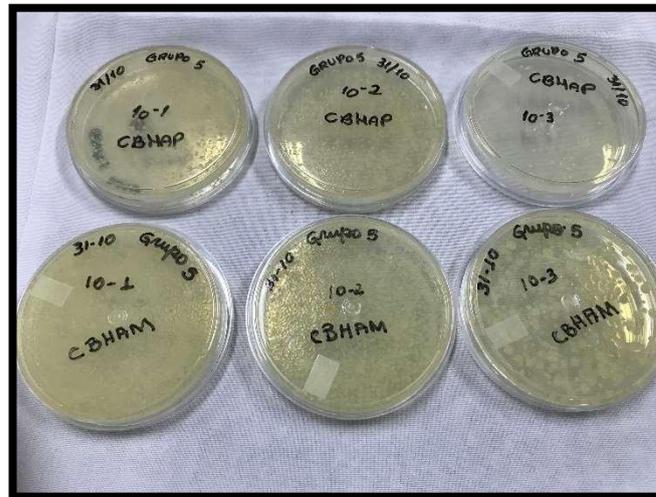
2.3 Microbiologia do leite e suas principais provas

Por conter vários nutrientes e uma grande diversificação em sua composição, o leite é um dos alimentos mais completos existentes, sendo assim, também podendo dar origem ao desenvolvimento de muitos microrganismos. Dentre eles os que mais povoam o leite são as bactérias.

2.3.1 Contagem Bacteriana Total

A contagem bacteriana total (Figura 10), também conhecida como contagem padrão em placas, exprime a contaminação da matéria-prima, na maioria das vezes o motivo é a falta de higienização na produção ou desinfecção insuficientes, além de evidenciar também a má qualidade no que diz respeito a condições de tempo e temperatura inadequadas durante a produção e conservação do alimento. A CBT (contagem bacteriana total) determina a quantidade de bactérias mesófilas (BOZO et al,2013).

Figura 10: Contagem Bacteriana no leite cru, apresentado resultados incontáveis.



Fonte: Xavier (2017).

A IN nº. 62 exige para a região Centro-Sul e Sudeste que a partir de 2016 a amostra de leite apresente no mínimo 1000.000 UFC/mL em uma amostra de leite cru refrigerado e a partir de 2017 para as regiões norte e Nordeste (BRASIL,2011).

O teste é realizado da seguinte maneira: a amostra de leite é diluída e depositada em um meio de cultura, para incubação a 32°C/ 48h, para depois ser contado o número de colônias bacterianas que obtiveram surgimento no meio de cultivo. Porém, esta análise pode subestimar o número de bactérias, pois somente é capaz de evidenciar as bactérias formadoras de colônias que estão viáveis e que se multiplicam nas condições de cultivo oferecidos. Atualmente este método vem sendo substituído, em laboratórios modernos, pela citometria de fluxo, que consiste na medição de características celulares quando elas estão suspensas em um meio fluido. Sendo um método bem mais confiável, devendo o leite cru ser coletado em frascos estéreis com conservante bacteriostático (Azidiol, após a sua homogeneização ser transportados em recipiente com gelo. Sendo encaminhado o mais rápido possível para o laboratório que procederá a análise (TRONCO, 2010).

A IN nº. 51 estipulava que o valor de CBT entre 01 de julho de 2010 a 01 de julho de 2011 estivesse no máximo com 750.000 UFC/mL, para as regiões Sul e Sudeste. E com o aumento da rigorosidade foi diminuída a tolerância às bactérias pela IN nº. 62, em vigor a partir de 2012 e a partir de 2013 para as regiões Norte e Nordeste, quando o valor de CBT foi fixada em no máximo 500.000 UFC/mL para amostras individuais e a partir de 2016 para o Sul e Sueste e 2017 para a região norte e nordeste

caindo ainda mais o valor, indo para 100.000 UFC/mL (SILVA,2015; BRASIL 2002, BRASIL,2011).

A análise é compulsoriamente realizada uma vez ao mês e sempre em laboratórios credenciados a RBLQ, independentemente dos testes feitos pelos estabelecimentos beneficiadores onde o leite será processado (BRASIL, 2011).

2.3.2 Teste do Azul de Metileno

O teste de redução do azul de metileno (Figura 11) é uma prova baseada na capacidade dos microrganismos em reduzir o corante (azul de metileno) produzindo assim substâncias redutoras durante o crescimento dos microrganismos. Essa prova baseada em redução de corante é bastante acessível e de fácil realização, porém, não pode ser usado como única prova, por ter a característica de não revelar todos os microrganismos presente, pois nem todos os microrganismos são capazes de causar redução dos corantes em equivalente forma (SANTOS; FONSECA, 2007).

Figura 11: Prova da Redutase no leite cru



Fonte: Xavier (2018).

Outra singularidade do Teste de Redução do Azul de Metileno (TRAM) é a necessidade de o leite ser cru, fresco e não refrigerado. Foi observado em estudos que a refrigeração influencia na taxa de multiplicação bacteriana, e com isto altera os resultados dos testes, visto que a atividade bacteriana em amostra refrigerada é

notoriamente lentificada. Sendo as bactérias psicotróficas, principais microrganismos presentes no leite cru refrigerado e estes não apresentam boa capacidade redutora do azul de metileno, portanto não quantificando de forma real as amostras (TRONCO, 2010).

O TRAM mede a concentração bacteriana no leite, pois a velocidade da redução do azul de metileno está ligada a quantidade de bactérias presentes e que fazem uso de nutrientes e do oxigênio no leite como base para multiplicação (não representando todas as bactérias presentes) (TRONCO, 2010).

Procedimento para a realização da técnica: adiciona-se 10mL de amostra em seguida 1mL de solução indicadora de azul de metileno. Neste momento o leite passará a apresentar coloração azul. Depois homogeneiza-se e coloca em banho maria na temperatura de 37°C, registrando a hora. A leitura do teste é feita a cada 15 minutos, até que a amostra apresente a mesma cor inicial (leitosa) novamente, tendo assim ocorrido a descoloração total. Nesse instante deve ser registrada novamente a hora, para ser medido o tempo gasto na redução do azul de metileno (TRONCO, 2010).

De acordo com a IN nº. 62, o tempo de redução é no mínimo 90 minutos (BRASIL, 2011).

No Brasil ainda há bastante para melhorar, no que se refere a qualidade do leite, visto que o número de amostras com índices acima do exigido é alta. Langoni (2013) relatou que o leite no Brasil não tem boa qualidade por ter no momento da ordenha, um manejo incorreto, falhas na manipulação do leite e utensílios que entram em contato com o leite tornando-se fômites para novas contaminações como por exemplo a mastite bovina.

No entanto há propriedades que conseguem seguir ao máximo as normas de qualidade leiteira, mostrando que é possível em nosso país o comprimento de tais normas e conseqüentemente obtenção de um produto dentro dos padrões da IN nº. 62. Segundo Fava et al. (2008) apenas 6,12% de 49 amostras coletadas na região de Porto Alegre estavam fora dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira e as amostras fora dos padrões são atribuídas as baixas condições de higiene no momento em que o leite é ordenhado ou armazenado o que corrobora com os motivos de Langoni (2013).

Estudos apontam que 20% das 20 amostras apresentam limites acima do estabelecido pela legislação brasileira, também sendo este correlacionado a

problemas com resfriamento, manejo de ordenha e higienização (ROSA; QUEIROZ, 2007).

3 CONCLUSÃO

O controle da qualidade do leite se mostrou uma ferramenta de grande importância para o aumento da vida útil do produto final, para orientar o grau de sanidade do rebanho e também para garantir ao consumidor que ele está realmente levando para casa um produto íntegro e inalterado.

Beneficiou também as pesquisas, pois com os testes de qualidade do leite, há um fornecimento de dados para a evolução e maior conhecimento do produto, o que vem a possibilitar uma melhora no produto final a cada avanço da ciência.

Deixando elucidado que os produtos finais aprovados em todos os testes provem de um ambiente limpo e frequentemente bem higienizado, necessário tanto para animais quanto para os materiais usados durante toda a cadeia leiteira. Sendo por tanto a higiene o bem mais precioso dentro da indústria leiteira.

Portanto com a constatação da qualidade da matéria prima, com emprego das normas vigentes, um trabalho bem realizado pelo serviço de inspeção, o consumidor pode resguardar-se e garantir a aquisição de produtos com qualidade, mantendo a integridade da saúde coletiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUINO, A. A.; BOTARO, B.G.; IKEDA, F. S.; RODRIGUES, P. H.; MARTINS, M. F.;

SANTOS, M. V. Efeitos dos níveis crescentes de ureia na dieta de vacas em lactação sobre a produção e a composição físico-química do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 884, 2007.

BARBOSA, S. B. P.; MONARDES, H. G.; CUE, R. I.; RIBAS, N. O.; BATISTA, A. M. V.

Avaliação da contagem de células somáticas na primeira lactação de vacas holandesas no dia do controle mensal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n.1, p. 94-102, 2007.

BOZO, G. A; ALEGRO, L. C. A.; SILVA, L. C. Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 2, p. 589-594, 2013.

BELOTI, V.; RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; TAMANINI, R.; YAMADA, A. K.; CAVALLETI, L.;

SHECAR, C. L.; NOVAES, D. G.; SILVA, F. F. Qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado produzido no município de Sapopemba-PR. 2001. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Disponível em: <http://www.revista.info.br>. Acesso em: 28 de março de 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 51, de 18 de setembro de 2002**. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, de 20 de setembro de 2002. Seção 1, p. 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 62, de 29 de dezembro de 2011**. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União, Brasília, DF, dezembro de 2011. Seção 1, p.6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Decreto nº. 8681, de 23 de fevereiro de 2016**, alterado pelo Decreto nº. 9.013, de 29 de março de 2017, publicado no Diário Oficial da União, Brasília, DF, de 30 de março de 2017, p. 3, alterado pelo Decreto nº 9.069, de 31 de maio de 2017, publicado no Diário Oficial da União, Brasília,DF, seção 1, 01 de junho de 2017, pág. 1.

BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G; THOMAZ, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Revista Científica Rural**. Santa Maria, v. 35, n.4, p. 848-854, jul. /ago., 2005.

CARVALHO, G. R. **A indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro**. Circular técnica, 102. EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, 2010.

CALDEIRA. L. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; FONSECA. C. M.; MELO, L. M.; CRUZ. A. G.; OLIVEIRA, L. L. S. Caracterização do leite comercializado em Janaúba – MG. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 191- 195, 2010.

CHAPAVAL, L; PIEKARSKI. Leite de qualidade: manejo reprodutivo, nutricional e sanitário. Viçosa- MG: **Aprenda Fácil**, p. 131-150, 2000.

DUARTE, L. M. A.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V.; SALLA, L. E. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey sobre o consumo, a produção e a composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n.6, p. 2020-2028, 2005.

DURR, J, M; CARVALHO, M. P. C; SANTOS, M. V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo- RS: Editora Universitária, p.136, 2004.

FAGAN, E. P.; TAMANINI. R.; FAGNANI, R.; BELOTI. V.; BARROS, M. A. F.; JOBIM, C. C. Avaliação de padrões físico-químicos e microbiológicos do leite em diferentes fases de lactação nas estações do ano em granjas leiteiras no estado do Paraná- Brasil. **Revista SEMINA: Ciências Agrárias**, Londrina, v., n. 3, p. 651- 660, 2008.

FAVA, L. W.; FRANCISCO, D. C.; BRONZATTO, M. J.; MAROSO, M. T. D.; PINTO, A. T.

Qualidade do leite cru resfriado da bacia leiteira da Grande Porto Alegre-Brasil. Acidez expressa em ácido láctico e redução do azul de metileno como parâmetros de qualidade. 2008 Disponível em: <http://ict.udg.cu>. Acesso em: 02 nov. 2015.

GONZALEZ, H. L.; FISCHER, V; RIBEIRO, M. E. R.; GOMES, F. J.; STUMPF JÚNIOR, W.;

SILVA, M. A. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, nov./ dez. 2004.

GUERRA, J. **Instrução Normativa número 51 e número 62, o que muda?** Disponível em: <http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/22793>. Acesso em: 22 mar. 2015.

LANGONI H. Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v33n5/12.pdf>. Acesso em: 25 de junho de 2016.

LIMA, M. C. G.; SENA, M. J.; MOTA, R. A.; MENDES, E. S; ALMEIDA, C. C.; SILVA, R. P. P. E. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na região Agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n.1, p.89-95, jan./mar., 2006.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 29, n. 6, p. 1883-1186, 2000.

MAPA. Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão e Estratégia. Plano Mais Pecuária. Brasília, 2014. Disponível em: http://www.fiepr.org.br/observatorio/biotecnologiaanimal/uploadAddress/Plano_Mais_Pecuária. Acesso em: 16 jan. 2017.

MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E R.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V.

Ocorrência de leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e o efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 1, p. 91-97, 2007.

MARTINS, M. E. P.; NICOLAU, E. S.; MESQUITA, A. J.; NEVES, R. B.; ARRUDA, M. T.

Qualidade de leite cru produzido e armazenado em tanques de expansão no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1152- 1158, out./dez. 2008

MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; MAGNANI, D. F.; NERO, L. A.; BARROS,

M. A. F.; PIRES, E. M.; PAQUEREAU, B. P. D. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. **Revista SEMINA: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n.1, p.173-182, jan./ mar., 2010

OHI, M.; KNOPKI, A. C. G.; BEDNARSKI, F.; NASCIMENTO, L. V.; SILVA, L. B. **Princípios básicos para a produção de leite bovino**. Curitiba: Imprensa da Universidade Federal do Paraná, v. 101, p. 14. 2010.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA

(FAO). Milk and milk products. Food outlook-june, 2010. Disponível em:

<http://www.fao.org/docred/013/a1969e/a1969e00.pdf>. Acesso em 26 jan. 2017.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA

(FAO). Producción y productos lácteos - Calidad y evaluación. 2014. Disponível em:

<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/calidad-evolucion/es>. Acesso em: 26 jan. 2017.

PEGORARO, C. M. L. **Noções sobre produção de leite**. 2009. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br>. Acesso em: 20 mar. 2016.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 3ª Ed. BeloHorizonte: FEPMVZ Editora, 2001, 555p.

NOGUEIRA, M. P. **Leite: o que esperar para 2011?** Bigma Consultoria. SP. 2011. Disponível em: <http://www.bigma@bigma.com.br>. Acesso em: 12 jul. 2012.

RANGEL, A. H. N.; MEDEIROS, H. R.; SILVA, J. B. A.; BARRETO, M. L. J.; LIMA JÚNIOR, D. M. Correlação entre a contagem de células somáticas e o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n. 3, p. 57-70, 2009.

RIBAS, P. N.; HARTMANN, W.; MONARDES, G. H.; ANDRADE, V. V. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos estados Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2343-2350, 2004.

ROSA, L. S.; QUEIROZ, M. S. Avaliação da qualidade do leite cru e resfriado mediante a aplicação de princípios do APPCC. 2007. **Revista Ciência e Tecnologia do Alimento**, Campinas, v. 27, n.2, p. 422-430, abr./jun., 2007.

SANTOS, P. A. DOS.; SILVA, M.A.P. DA; SOUZA, C. M. DE ISEPON, J. DOS S.; OLIVEIRA, N DE; NICOLAU, E. S. Efeito do tempo e da temperatura de refrigeração no desenvolvimento de microorganismos psicotróficos em leite cru refrigerado coletado na macro região de Goiânia-GO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1233- 1237, out./2009.

SANTOS, V. M.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para o controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri-SP: Manole, p. 197-288, 2007.

SANTOS, C. A.; CARVALHO, L. A.; CAMPOS, O. F.; ARCURI, P. B. **Históricos, conceitos e o programa nacional de melhoria da qualidade do leite**. Embrapa gado de leite, 30 anos de pesquisas e conquistas para o Brasil. (EMBRAPA) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Gado de leite, Juiz de Fora, p. 1-27, 2006.

SILVA, C. H. P. **Qualidade do leite produzido no Distrito Federal (Brasil) quanto à adequação à Normativa nº51/2002**. 2010. Disponível em: <http://bdtb.bce.unb.br>. Acesso em: 17 fev. 2016.

SILVA, R. O. P. **Mercado de lácteos em 2014 e perspectivas para 2015, instrução normativanúmero 51 e número 62, o que muda**, 2015. Disponível em: <http://www.IEA.SP.gov.br/out/lertexto.php>. Acesso em: 24 mar. 2016.

TRONCO, M. V. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 4. ed. Santa Maria - RS:Universidade Federal de Santa Maria, p. 08-10, 2010.

VARGAS, L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; SANTOS, F. L.; QUEIROZ, A. C.; MANCIO, A.B. Adição de lipídeos na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n.1, p. 5522-529, 2002.

VOLTONILIT. V.; SANTOS, G. T.; ZAMBOM, M. A.; RIBAS, N. P.; MULLER, E. E.; DAMASCENO, J. C.; ÍTALO, L. C. V.; VEIGA, D. R. Influência dos estágios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. **Revista Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 862-969, 2001.

ZAFALON. L. F.; FILHO NADER. A.; AMARAL. L. A.; OLIVEIRA. J. V.; RESENDE. F. D. **Alterações da composição e da produção de leite oriundo de quartos mamários de vacas com e sem mastite subclínica de acordo com o estágio e o número de lactações**. Arquivo Instituto Biológico, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 326-415. out./dez., 2005.

ZANELA. M. B.; FICHER. V.; RIBEIRO. M. E. R.; STUMPF JÚNIOR. W.; ZANELA, C.; MARQUES, L. T.; MARTINS, P. R. G. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agropecuária**, Brasília, v.41, n.1, p. 152- 148, jan., 2006.

ZANELA. M. B.; RIBEIRO. M. E. R.; FISCHER. V.; GOMES. J. F.; STUMPF JÚNIOR. **Ocorrência de leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 61, n.4, p. 1009- 1015, ago., 2009.