



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ANA CAROLINA LEMOS

**DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE CRIOSCÓPICO DE LEITE CRU E PASTEURIZADO
PELA UTILIZAÇÃO DE CRIOSCÓPIO ELETRÔNICO E POR ULTRASSOM**

Brasília

2011

ANA CAROLINA LEMOS

**DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE CRIOSCÓPICO DE LEITE CRU E PASTEURIZADO
PELA UTILIZAÇÃO DE CRIOSCÓPIO ELETRÔNICO E POR ULTRASSOM**

Monografia apresentada para a conclusão do
Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília.

Orientadora: Márcia de Aguiar Ferreira

Brasília

2011

Nome do autor: Lemos, Ana Carolina

Título: DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE CRIOSCÓPICO DE LEITE CRU E PASTEURIZADO
PELA UTILIZAÇÃO DE CRIOSCÓPIO ELETRÔNICO E POR ULTRASSOM

Monografia de conclusão de Curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em: 20 de julho de 2011.

Banca Examinadora:

Profª. Dra. Márcia de Aguiar Ferreira

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. Luiz Antônio Borgo

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Profª. Msc Stefania Marcia de Souza

Instituição: Faciplac (Faculdades Integradas
da União Educacional do Planalto Central.)

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Dedico este trabalho á minha querida família, em especial aos meus pais e aos meus avós, que sempre me mostraram o melhor caminho. Ao Álvaro, meu namorado que, com muito carinho e paciência, me deu forças nos momentos mais difíceis. Aos meus amigos que deixaram minha vida mais divertida. Aos meus colegas que fizeram das aulas chatas e longas momentos engraçados. À professora Márcia, que de uma maneira muito especial me acolheu e me auxiliou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por essa oportunidade. Por ter colocado pessoas muito especiais na minha vida e por ter permitido que eu chegasse até aqui.

Agradeço à minha família que, sem ela nada seria possível. Agradeço por cada palavra valiosa, por cada abraço acolhedor e por cada uma daquelas noites em claro.

Agradeço ao meu namorado que transformou cada desafio em lembranças memoráveis.

Agradeço aos meus amigos e colegas por todas as gargalhadas.

Agradeço à professora Márcia que, com esse jeitinho muito calmo, me ensinou e me ajudou muito.

Aos professores e funcionários da Universidade de Brasília que, cada um do seu jeito, soube tornar a Universidade um pouco melhor pra todos.

RESUMO

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

Com o grande crescimento da pecuária no Brasil, devido à alta demanda diária de leite diária, foi preciso desenvolver equipamentos eletrônicos que facilitassem e agilisassem o controle de qualidade do leite, com resultados mais específicos e precisos. Muitas análises são utilizadas para avaliar a qualidade do leite dentre as quais a crioscopia que é utilizada para verificação de fraude por adição de água ao leite. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a equivalência do índice crioscópico (IC) obtido pela utilização de ultrassom e determinação do ponto de congelamento do leite. Foram analisadas 20 amostras de leite cru (LC) e 20 de leite pasteurizado (LP), utilizando crioscópio digital eletrônico e analisador por ultrassom Ekomilk®. As análises das amostras de LP mostraram que 13 amostras (65%), apresentaram IC acima do padrão quando analisadas pelo crioscópio e 10 (50%) quando analisadas pelo equipamento ultrassônico. Assim, no total das amostras (n=40) o crioscópio detectou 17 amostras (42,5%) com IC acima do padrão e o equipamento ultrassônico detectou 20 amostras (50%) alteradas. Ainda, verificou-se que 20% das amostras de LC e 65% das amostras de LP estavam fraudadas por adição. A maior porcentagem de água adicionada foi observada na amostra 9 de LC (11,29%) , porém a maior frequência de fraude foi observada entre as amostras de LP.

Palavras-chave: Qualidade do leite; fraude no leite; crioscopia; Ekomilk®

ABSTRACT

LEMOS, Ana Carolina. Freezing index assessment of raw milk and pasteurized by ultrasound and electronic cryoscopy. 2011. Monograph (Completion of the Course of Veterinary Medicine) -Faculty of Agronomy and Veterinary Medicine, University of Brasilia, Brasilia, DF.

Because of the quickly growth of livestock farming in Brazil, due to high demand of milk daily, the laboratories and industries need to develop electronic equipment which facilitates the control of milk quality, with more specific and accurate results. Many tests are used to evaluate the quality of milk. The freezing point is used to check fraud by adding water to milk. The purpose of this study was to evaluate the equivalence of the freezing point index (FP) obtained by the use of ultrasound and determination of the freezing point of milk. Were analyzed 20 samples of raw milk (RM) and 20 samples of pasteurized milk (PM) using electronic cryoscope ultrasound analyzer Ekomilk ®. Analysis of PM samples showed that 13 samples (65%) had FP above the standard when analyzed by cryoscope and 10 (50%) when examined by the ultrasonic equipment. On the total sample (n = 40), the cryoscope detected 17 samples (42.5%) with FP above the standard and ultrasonic device detected 20 samples (50%). Finally, it was observed that 20% of RM samples and 65% of PM samples were rigged by water addition. The highest percentage of added water was observed in the RM sample number nine (11.29%), but the fraud was more frequently observed among samples of PM.

Keywords: Quality of milk, milk fraud; freezing point; Ekomilk ®

SUMÁRIO

REVISÃO DE LITERATURA.....	8
1. PRODUÇÃO DE LEITE NO BRASIL E NO DISTRITO FEDERAL.....	8
2. PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE.....	13
3. QUALIDADE DO LEITE NO BRASIL APÓS A INSTRUÇÃO NORMATIVA 51/2002.....	15
4. ÍNDICE CRIOSCÓPICO.....	16
5. FATORES QUE CONTRIBUEM PARA VARIAÇÕES NO ÍNDICE CRIOSCÓPICO.....	18
6. EQUIPAMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE CRIOSCÓPICO DO LEITE.....	19
7. SITUAÇÃO ATUAL DAS METODOLOGIAS APLICADOS PARA O ÍNDICECRIOSCÓPICO	22
REFERÊNCIAS	24
OBJETIVOS	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS	38
ANEXOS.....	40

REVISÃO DE LITERATURA

Produção de Leite no Brasil e no Distrito Federal

O Brasil está entre os 10 maiores produtores no mercado da pecuária leiteira, com média de 25.333 mil toneladas de leite de vaca em 2006, atrás somente dos Estados Unidos, China, Índia, Rússia e Alemanha (Belitz et al., 2009). Essa atividade proporciona a geração de renda para os produtores e cresce significativamente. Isso porque o leite é um produto de grande importância nutricional, essencial para determinadas faixas da população e por seus derivados fazerem parte da cesta básica. Essa é uma prática que está presente em todos os estados brasileiros e, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2006, dos 5.561 municípios do país, 83,0% participaram efetivamente deste mercado com mais de 1000 litros/dia de leite no ano de 2006 (Gomes, 1999; Santos et al., 2008).

Em 2004, o Brasil movimentou R\$ 64,78 bilhões. Do total produzido, 33,7% foi destinado para a produção de queijo, 18,7% para de leite Ultra Alta Temperatura (UAT ou, longa vida), 18,6% para a produção de leite em pó. Produtos como leite A e B, manteiga e iogurtes consumiram cerca de 2,37 bilhões de quilos de leite e movimentaram mais de R\$ 4,4 bilhões. Dados de 2007 mostram que a pecuária leiteira ofertou 25,9 bilhões de quilos de leite, e um rebanho superior a 22 milhões de animais, com produtividade média de 1182 quilos por vaca ao ano. Bacias leiteiras especializadas, como as da região de Campos Gerais no Paraná, destacam-se com uma produtividade de 7900Kg/305dias/vaca (Emater-DF, 2008).

Quando há o apoio de profissionais especializados na área, o que se observa é o crescimento na produção de leite e, conseqüentemente, uma melhora na qualidade. É o que se observa atualmente, com a parceria entre a Nestlé e a Fonterra, em Andradina, São Paulo. A *Dairy Partners* Américas (DPA), juntamente com a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) oferece orientações técnicas aos produtores de leite, o que resulta em qualidade e aumento da auto-estima. Tudo isso contribuindo para a melhoria de vida da família e maior rendimento do negócio (Bourroul, 2008).

Com relação à produção leiteira nas diferentes regiões do país, desde a década de 90, observa-se um crescimento da região Centro-Oeste, que aumentou de 12% para 15% a sua participação no mercado. Alguns fatores favoreceram esse crescimento em

regiões do interior do país, portanto fora dos eixos tradicionais, como Minas Gerais e São Paulo, tais como: baixo custo de produção, desaceleração da produção dessas regiões tradicionais e mobilização da classe produtora em conseguir vantagens em pioneirismo nos negócios (Gomes, 1999; Santos et al., 2008).

Entretanto, essa tendência de mudanças das regiões, não tem sido observada no Distrito Federal (DF) que não apresenta crescimento compatível com as expectativas, já que a produção anual é de aproximadamente 35,6 milhões de litros ao ano e o consumo é de cerca de 125,8 milhões de litros. Isso significa que 80% do leite precisa ser importado, de outras regiões, para atender a demanda de consumo no DF. Atualmente, o DF conta com 7.893 matrizes de rebanho especializado e 25.159 matrizes de rebanho misto para produção de leite (Emater-DF, 2008).

Nos últimos anos, como alternativa para incentivar a produção leiteira e minimizar o problema da fome no país, diversos governos estaduais e o Governo do Distrito Federal (GDF) implantaram programas de assistência às famílias de baixa renda, oferecendo o leite gratuitamente como parte dos alimentos essenciais. Segundo informe de fevereiro de 2009, o GDF distribui, diariamente, 46.946 litros de leite pasteurizado, atendendo crianças entre zero e sete anos de idade, idosos ou pessoas com doenças crônicas (Agecom-GDF, 2009).

Entretanto, não se pode pensar em políticas de crescimento no agronegócio e em políticas sociais, como em qualquer outro ramo que tenha como objetivo o desenvolvimento econômico de uma população, sem considerar o aspecto qualidade. E também, verifica-se que o mercado consumidor tem se mostrado muito mais exigente e instruído. Este tema tem se tornado o ponto chave nas discussões atuais de produção de alimentos, no sentido de atender as necessidades dos consumidores. As agências reguladoras e as indústrias de alimentos são os dois grupos mais interessados em determinar e controlar a qualidade microbiológica dos alimentos: os primeiros para evitar surtos e garantir a segurança alimentar da população e os segundos para conquistar seu espaço nesse mercado cada vez mais competitivo, associando produtos de boa qualidade com a imagem da empresa (Nollet & Toldra, 2007; Adams & Moss, 2008).

Com relação ao leite, o conceito de qualidade é bastante amplo, pois além das características organolépticas e de inocuidade do produto, estão envolvidos processos de produção, rastreabilidade, responsabilidade social, questões ambientais, bem estar dos trabalhadores e dos animais. A responsabilidade no controle da qualidade é do produtor,

segundo o Decreto 5741/2006, que regulamenta a Lei nº9712/98, e cabe ao Estado a vigilância do cumprimento dessas normas e procedimentos. Porém, o que tem se presenciado é uma precariedade desse sistema e a constatação de falhas, como recentemente noticiado em cadeia nacional (Emater-DF, 2008; Pires, 2007).

Composição do leite

O leite é uma mistura homogênea de coloração branca, resultante da dispersão da luz em seus vários componentes que participam da sua formação físico-química e é composto por mais de 100.000 tipos de diferentes de moléculas e cada uma delas apresenta função específica, constituindo assim, um dos alimentos mais completos que se conhece e oferecendo ainda, a possibilidade de processamento industrial para a obtenção de diversos produtos para a alimentação humana. Os componentes do leite permanecem em equilíbrio de modo que a relação entre eles é bastante estável. O conhecimento dessa estabilidade é a base para os testes que são realizados com o objetivo de apontar a ocorrência de problemas que alteram a composição do leite. A composição média do leite de vaca é: água (87,5%), gordura (3,6%), proteínas (3,6%), lactose (4,5%), sais minerais (0,8%) e pode variar conforme a raça, a espécie, individualidade, alimentação, tempo de gestação, intervalos entre ordenhas, estresse ou ação de drogas medicamentosas (Barros, 2007; Fox & McSweeney, 1998).

A água é o elemento que se apresenta em maior proporção, e os outros componentes encontram-se em forma de emulsão (gorduras e substâncias associadas), de suspensão coloidal (as proteínas caseínas) e de solução verdadeira (lactose, sais minerais, vitaminas hidrossolúveis, proteínas do soro). As gorduras, proteínas, carboidratos são sintetizados pela glândula mamária. Outras substâncias, como os minerais hidrossolúveis, enzimas e proteínas específicas são originários do plasma sanguíneo e alcançam a glândula mamária por transporte celular (Ordóñez, 2005; Walstra et al., 2006).

A gordura do leite é composta, em sua maior proporção, por triglicerídeos (97-98%) e por pequenas quantidades de esteróis, de ácidos graxos livres e de fosfolípidos (3 a 2%). O tamanho dos glóbulos é de aproximadamente 5 micras, conferindo uma superfície de contato de, em média, 100 m² por litro. Esses glóbulos encontram-se protegidos por uma membrana de natureza protéica, na qual estão associados fosfolípidos, proteínas e outras substâncias, como algumas vitaminas (A, D, E, K) e

enzimas catalíticas eficientes. E, quando homogeneizado, há a destruição parcial desta membrana protetora, o que provoca maior sensibilidade da gordura aos processos de hidrólise e oxidação, facilitando ainda mais sua digestibilidade. (Tronco, 2003).

As proteínas do leite são formadas por dois grupos: as caseínas (80%) e proteínas do soro (20%) e representam cerca de 95% de todo o nitrogênio presente no leite. A caseína é uma substância coloidal complexa, que apresenta conformação quaternária, está associada ao cálcio e ao fósforo na forma de citratos e fosfatos, e que precipita quando em pH baixo ou, quando submetida a ação de coalhos ou de álcool. Essa proteína representa uma micela formada por submicelas denominadas de: alfas caseínas (α S1 e α S2), beta caseína (β), gama caseína (γ) e kappa caseína (κ), respeitando a proporção molecular de, respectivamente, 11:3:10:4 de cada caseína. Essa grande micela, ao ser observada no microscópico eletrônico, possuem diâmetro entre 40 e mais de 300 μ m (Ordóñez, 2005). As submicelas são mantidas próximas umas as outras, por interações hidrofóbicas e pontes salinas, apresentando um comportamento distinto frente ao cálcio, sendo as frações α e β caseínas sensíveis e a κ caseína insensível ao mineral. Essa propriedade explica a estabilização que a κ caseína oferece, mantendo as frações α e β caseínas integras durante alguns processos de tecnologia de fabricação como a pasteurização, mas não quando há ação de enzimas como a renina (Belitz et al., 2009).

As proteínas do soro, por sua vez, são constituídas pela albumina, alfa-lactoalbumina, beta-lactoglobulina, imunoglobulinas e peptonas. De uma forma geral, essas proteínas desnaturam-se quando em temperaturas acima de 80°C e assim, comportam-se como insolúveis, podendo atuar como agentes emulsificantes de lipídeos, devido a facilidade de interagir com as partículas hidrofóbicas e com as moléculas do solvente. As proteínas do soro do leite de origem sérica são representadas principalmente, pelas imunoglobulinas (IgA, IgG e IgM) e estão presentes em concentrações variáveis (Walstra et al., 2006; Tronco, 2003).

Ainda, o leite contém diversas enzimas naturais incluindo lipases, proteases, catalases, lisozima, xantino oxidase, fostatase alcalina, fosfatase ácida, lactoperoxidase e superoxidodismutase. As enzimas do leite são provenientes, do sangue e das células secretoras da glândula mamária, sendo que também podem ser produzidas pelo metabolismo de microrganismos (Belitz et al., 2009; Fox & McSweeney, 1998). Do ponto de vista do tratamento térmico do leite, destacam-se a fosfatase alcalina e a peroxidase por serem utilizadas com indicadores da eficiência da pasteurização. O

binômio tempo x temperatura de inativação da fosfatase alcalina é ligeiramente superior ao necessário para a destruição do microrganismo alvo no tratamento térmico do leite, o *Mycobacterium tuberculosis*, desta forma, a sua inativação garante um produto seguro para o consumidor. A peroxidase é uma das enzimas mais termoresistentes encontradas no leite, e a sua inativação significa aplicação de tratamento térmico mais intenso do que os permitidos para a pasteurização do leite (Fox & McSweeney, 1998).

A lactose é o carboidrato presente exclusivamente no leite, sendo um dissacarídeo formado por uma molécula de glicose e uma de galactose, e é sintetizada no Complexo de Golgi das células secretoras da glândula mamária, sendo a responsável pela manutenção da pressão osmótica, junto com os íons sódio, potássio e cloreto na glândula mamária (Fox & McSweeney, 1998). Isso porque cada grama de lactose arrasta dez vezes seu volume em água, contribuindo assim para 50% do volume total do leite (Fontanelli, 2001). Ainda, tem a importância tecnológica em todos os processos de acidificação do leite ou, fermentação láctica, que é a base da fabricação de iogurtes, manteigas fermentadas e queijos, sendo o constituinte mais estável do leite, praticamente não variando entre as raças bovinas. A lactose isolada do leite em forma de pó é utilizada como matéria prima na indústria farmacêutica.

Os minerais presentes no leite representam cerca de 0,6 a 0,8% do peso do leite, e os principais são o cálcio (Ca) e o fósforo (P), sendo o Ca um importante elemento na formação do sistema ósseo de mamíferos. No leite líquido esses dois minerais formam um complexo ligado à caseína, o fosfocaseinato de cálcio, não estando, portanto na sua forma livre. Outros minerais também estão presentes como sódio, potássio, magnésio, flúor, iodo, enxofre, cobre, zinco e ferro, mas em quantidades menores (Tronco, 2003).

O leite figura entre um dos únicos alimentos que contém todas as vitaminas conhecidas (hidrossolúveis e lipossolúveis), mas, algumas em pequenas quantidades (traços), sendo que as principais vitaminas lipossolúveis encontradas no leite bovino são: A (1500 UI/litro), D (20 UI/litro) e E (1 a 2 mg/litro) e as principais hidrossolúveis são: B1 (400 a 1000µg/litro), B2(800 a 3000 µg/litro), B6 (0,3 a 1,5 mg/litro), B12 (1 a 8 µg/litro), ácido pantotênico (2 a 5 mg/litro), niacina (1 a 2 mg/litro) e vitamina C (10 a 20 mg/litro) (Walstra et al., 2006; Tronco, 2003).

Parâmetros de avaliação da qualidade do leite

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) iniciou na década de 1990 uma séria e extensa discussão nacional, envolvendo os diversos setores envolvidos nessa atividade, em busca de soluções e alternativas para melhorar a qualidade do leite e, conseqüentemente, seus derivados, constituindo o Programa Nacional para Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL). O resultado desse esforço foi a publicação em 2002 da Instrução Normativa nº 51 – IN51 (Brasil, 2002), que reúne novas normas de produção, identidade e qualidade de leites tipos A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado, além de regulamentar a colheita de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, como mostram as Tabelas 1e 2.

Algumas modificações em relação aos parâmetros de qualidade do leite cru refrigerado ainda estão em andamento, devido a diferenças entre as características de produção nas diversas regiões do país (Tabela 1.2). Porém, em todo o país já é exigida a conservação do leite cru sob refrigeração, independente de seu tipo, e o transporte granelizado às indústrias de beneficiamento (Brasil, 2002).

Ao MAPA cabe a responsabilidade pela fiscalização da qualidade do leite e seus derivados desde a produção até sua finalização na indústria. Nos pontos de comercialização, onde é possível o acesso direto pelos consumidores, quem tem a responsabilidade de fiscalização desses produtos é o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, Brasil, 2001).

Os parâmetros descritos para averiguação da qualidade dos produtos lácteos, desde as etapas iniciais de produção até o comércio, são baseados em dados científicos aplicáveis em todo o mundo. Dessa forma, a partir da análise desses indicadores é possível a realização de comparações entre a qualidade dos produtos lácteos produzidos em diferentes países com características distintas de produção, e assim verificar possíveis similaridades e alternativas para resolução de problemas. Em um país com dimensões continentais como o Brasil, essa mesma análise é possível de ser feita com dados oriundos de diferentes regiões leiteiras, o que possibilita um intercâmbio de experiências e promoção da desejada melhoria da qualidade do leite.

Órgãos oficiais devem realizar periodicamente análises laboratoriais de amostras da produção, nas diferentes etapas da cadeia leiteira, para averiguação de conformidade a esses padrões. Ainda, a comunidade científica deve também contribuir nessa verificação, realizando análises paralelas para comprovação dos resultados oficiais,

além de pesquisas que busquem alternativas para melhoria e desenvolvimento da atividade leiteira. Nesse sentido, várias pesquisas sobre a qualidade do leite e seus derivados podem ser encontradas no Brasil e em todo o mundo (Tebaldi et al., 2008; Aaku et al., 2004; Fromm et al., 2004; Santana et al., 2004; Beloti et al., 1999a; Beloti et al., 1996; Badini et al., 1996).

Tabela1 - Padrões físico-químicos estabelecidos pela IN51 para as características físico-químicas dos diferentes tipos de leite cru produzidos no Brasil (Brasil, 2002)

Item	A	B	C ^a
Gordura (%)	≥ 3,0	≥ 3,0	≥ 3,0
Acidez (°D)	14 a 18	14 a 18	14 a 18
Densidade (g/mL)	1,028 a 1,034	1,028 a 1,034	1,028 a 1,034
Crioscopia (°H)	-0,530	-0,530	-0,530
ESD (%)	≥ 8,4	≥ 8,4	≥ 8,4
Proteína (%)	2,9	2,9	2,9
Redutase (h)	5	3:30	1:30
Alizarol 72%	Estável	Estável	Estável

^a Em vigor nas regiões S, SE e CO até 01/01/2006, e nas regiões N e NE até 01/07/2007

Tabela 2- Padrões estabelecidos, pela IN51, para as características físico-químicas e microbiológicas dos diferentes tipos de leite pasteurizados produzidos no Brasil (Brasil, 2002).

Item	TIPOS DE LEITE			
	A	B	C ^b	Pasteurizado ^b
Gordura (%) ^a	< 0,5 a > 3,0	< 0,5 a > 3,0	< 0,5 a > 3,0	< 0,5 a > 3,0
Acidez (°D)	14 a 18	14 a 18	14 a 18	14 a 18
Alizarol 72%	Estável	Estável	Estável	Estável
ESD (%)	≥ 8,4	≥ 8,4	≥ 8,4	≥ 8,4
Crioscopia (°H)	-0,530	-0,530	-0,530	-0,530
Fosfatase alcalina	Negativa	negativa	negativa	negativa
Peroxidase	Positiva	positiva	positiva	positiva

^a variação em: integral: teor original; padronizado: 3%; semi-desnatado: 0,5 a 3,0%; desnatado: < 0,5%

^b Em vigor nas regiões S, SE e CO até 01/01/2006, e nas regiões N e NE até 01/07/2007

Qualidade do leite no Brasil após a Instrução Normativa 51/2002

A manutenção das características do leite, assim como a sua inocuidade e seu valor nutricional, são tópicos de preocupação tanto para a indústria quanto para os órgãos reguladores e o que se observa em pesquisas realizadas no Brasil é que no geral, a matéria-prima chega à indústria com diversos parâmetros alterados, indicando deficiências na produção e a oferta de produtos para o consumo, abaixo da qualidade estabelecida pelas legislações (João et al., 2008).

O MAPA, junto com setores científicos e econômicos do setor leiteiro, a partir das discussões e decisões originárias do PNMQL, chegando até ao que temos hoje, que é a Instrução Normativa nº 51 de setembro de 2002, que determina normas na produção, identidade e qualidade dos leites tipo A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado, como também a coleta e o transporte de leite cru refrigerado. As principais alterações advindas com a IN 51, além dos prazos para adequação de todo o leite produzido no país, são referentes à extinção do leite tipo C (desde 2007), à obrigatoriedade da refrigeração do leite na propriedade rural, ou em tanques comunitários, e ao transporte granelizado (Brasil, 2002).

Entretanto, verifica-se a partir de diversos trabalhos sobre a adequação da produção leiteira após a implantação da IN 51, que ainda não se atingiu um padrão de qualidade nacional, existindo muitas irregularidades nas diversas regiões do país atribuídas às diferenças relativas a essas regiões, desde climáticas e de infra-estrutura, como ao desconhecimento/desrespeito aos prazos estabelecidos (Fagan et al., 2008; Martins et al., 2007; Nero et al., 2007; Guerreiro et al., 2005; Nero et al., 2005; Nero et al., 2004; Santana et al., 2004).

Nos últimos anos, diversos governos estaduais e o GDF implantaram programas incluindo o leite como um alimento essencial, com o objetivo de vencer o desafio de garantir alimento às crianças que vivem em condição de miséria, acabar com a desnutrição e criar subsídios para que elas conquistem uma vida melhor.

A determinação do GDF é solucionar de forma imediata e eficaz o problema da fome, reconhecido como o mais urgente drama social do país. Neste programa, atualmente são entregues 67 mil litros de leite por dia e o programa atende diariamente 66 mil crianças carentes de seis meses a sete anos de idade. O leite distribuído pelo Pró-FAMÍLIA é adquirido de 44 fornecedores, o que tem proporcionado a ampliação de

oportunidades no mercado de trabalho. Conforme a Associação dos Produtores e Processadores de Leite do Distrito Federal e Entorno (Aproleite), o Programa do Leite gerou, aproximadamente, 2,5 mil empregos em todo o Distrito Federal, a maioria na zona rural. Com os incentivos do GDF aos produtores de leite e aos laticínios, a participação do DF no programa subiu para 35% do leite utilizado, enquanto 40% vêm da Região Integrada de Desenvolvimento do Entorno (Ride) e 25% de outros Estados (Emater-DF, 2008).

Em 2005, foi noticiado pela imprensa do país que 12 empresas contratadas pela Secretaria de Solidariedade do Distrito Federal foram acusadas de adulterar o leite distribuído aos beneficiários do Programa. Todas foram multadas e três delas tiveram os contratos rescindidos por já possuírem histórico de irregularidades. Os resultados das análises indicaram que produto fornecido pelas empresas continha soro e água em excesso. De acordo com as normas do MAPA, a inclusão do primeiro elemento diminui o teor nutritivo do leite e pode prejudicar a saúde de pessoas mais frágeis e a adição de água caracteriza fraude, práticas totalmente inadmissíveis e que devem ser coibidas. É importante ressaltar que no Distrito Federal, não existem pesquisas disponíveis a respeito desse tema, justificando plenamente, a realização do presente trabalho.

Índice crioscópico do leite

O índice crioscópico é um dos parâmetros analíticos utilizados para determinar a qualidade do leite “in natura” e industrializado. É proporcional ao extrato seco (matéria seca) do leite, mais especificamente em relação à presença de lactose e cloretos, e indica o ponto de congelamento do leite em relação ao ponto de congelamento da água (Tronco, 2003). É considerado um resultado de precisão em praticamente todo o mundo, já que a técnica oficial é avaliada como precisa e os valores apresentam pouca variabilidade. Por isso é um recurso utilizado para realizar a inspeção do leite quanto às fraudes por adição de água (Fonseca, L.M. et al., 1995). A alteração do índice crioscópico acarreta diversos prejuízos à indústria produtora de leite, visto que há um menor rendimento de produção, com perda da qualidade dos produtos (Monardes, 2009).

O valor padrão estabelecido pela legislação vigente é de no máximo $-0,530^{\circ}\text{H}$ (Brasil, 2002). Diversos trabalhos verificaram que o ponto de congelamento do leite apresenta-se relativamente constante, variando dentro de uma pequena faixa, já que o

índice crioscópico é bastante relacionado à lactose (Fonseca & Santos, 2000; Mitchell, G. E., 1989). Porém, alguns fatores podem acarretar em alterações deste índice. Uma diminuição do índice pode ser decorrente de aumento da acidez, congelamento do leite no tanque de expansão ou do aumento da concentração de solutos, tais como sal, açúcares e uréia. Já seu aumento pode estar relacionado com a adição de água ou características relacionadas com o rebanho (Behmer, 1981; Fagundes, 1997; Gikonyo, G. M. & Kleyn, D. H., 1969).

De acordo com Fonseca et al., 2005, o índice crioscópico do leite, é a medida da temperatura na qual o mesmo congela. É também conhecido por depressão do ponto de congelamento. Esta propriedade física é inerente à composição do leite e, diferente do que muitos acreditam, no leite “puro” está relacionada somente às substâncias nele dissolvidas no mesmo, isto é, à lactose e aos minerais. Se ocorrer o aumento de substâncias dissolvidas no leite, como no caso de acidificação ou adição de substâncias reconstituíntes, a tendência é de se alterar seu ponto de congelamento do mesmo, abaixando o seu valor (isto é, afastando de 0°C). Evidentemente, se houver adição de água ao leite, o ponto de congelamento do mesmo (que será de no máximo - 0,512°C) tenderá a se aproximar ao da água (que é 0°C). Portanto esta prova é utilizada para se detectar fraude por adição de água ao leite.

Julius Hortvet foi pioneiro na utilização do ponto de congelamento como análise qualitativa do leite. Em seus estudos no início do século passado, chegou à conclusão de que 7% e 10 % de sacarose congelavam em - 0,422 °C e - 0,621°C respectivamente. Estudos posteriores mediram essas temperaturas com maior precisão chegando aos valores - 0,408 °C e - 0,600 °C. No entanto, a essa altura, os valores de Hortvet já haviam criado um padrão para a crioscopia de leite, sendo adotados internacionalmente. Para fazer a transformação de Celsius para Hortvet, basta substituir valores na seguinte fórmula: $CELSIUS = 600/621 \times HORTVET$.

Desde os primeiros trabalhos realizados nesta área foi verificado que o ponto de congelamento do leite apresenta-se relativamente constante, variando dentro de uma pequena faixa. Isto se deve ao fato que o índice crioscópico é uma propriedade coligativa, assim como a pressões osmótica intramamária e a sanguínea. Por ser uma propriedade coligativa, depende diretamente do número de partículas dissolvidas e, por isso, o ponto

de congelamento do leite é próximo ao do sangue e oscila muito pouco. Isto explica porque em casos de mastite, a variação da crioscopia do leite não é significativa e, portanto, não é utilizada como indicador nesta patologia. Portanto, por ser uma análise com pouca variabilidade, a crioscopia do leite é considerada como uma prova de precisão, para se detectar fraude por adição de água ao leite, não somente no Brasil, mas em praticamente todos os países no mundo (Laticínio. Net, 2011).

Os órgãos de inspeção estabeleceram padrões de índices crioscópicos para leite livre da adição de água. A adição de água ao leite resulta em aumento no custo dos sólidos, aumento dos custos com transporte, redução do rendimento do produto e aumento de custo para o processamento do leite pela indústria. Dependendo da qualidade da água adicionada ao leite, esta pode afetar a população microbiana total. Por esta razão, indústrias de laticínios monitoram de perto a adição de água pelos fornecedores de leite e podem estabelecer padrões adicionais para pagamento por qualidade. Infelizmente, nem tudo é perfeito. O índice crioscópico do leite pode sofrer variações que afetam os seus valores (Laticínio. Net, 2005).

Frequentemente, rebanhos bem manejados, mesmo com medidas preventivas implantadas para se evitar água residual no sistema de ordenha, produzindo leite com composição normal para gordura, proteína e contagem de células somáticas, têm apresentado problemas de crioscopia, segundo Fonseca et al., 2005.

Fatores que contribuem para variações do índice crioscópico

O ponto de congelamento de um líquido é afetado pelos solutos dissolvidos em seu solvente. No caso do leite, a lactose, cloro, citrato e ácido láctico são responsáveis por aproximadamente 80% do total da depressão do ponto de congelamento. A lactose sozinha contribui com mais de 50% da depressão do ponto de congelamento. A maior parte da variação do ponto de congelamento do leite tem sido associada à presença do citrato (Fonseca et al., 2005).

O índice crioscópico do leite dos animais da mesma espécie pode apresentar ligeira variação, mas o de um conjunto de animais tenderá sempre a se aproximar do valor médio. Alguns fatores podem levar a variações na concentração de vários dos constituintes do leite. Entre esses, citam-se: estação do ano, idade, estado de saúde e raça

das vacas, acesso à água, alimentação, temperatura ambiente, hora da ordenha (ex. manhã ou ao entardecer). Mas as diferenças não chegam a causar alterações significativas no ponto de congelamento do leite. (Embrapa, 2007; Ciência do Leite, 2010). O tratamento térmico do leite não altera significativamente o ponto de congelamento do leite, a não ser que seja realizado concomitantemente com tratamento a vácuo, o qual pode provocar aumento de ponto de congelamento de 0,5°C, equivalente a $\pm 1\%$ de adição de água. Isso se deve ao fato de que o vácuo retira parcial ou totalmente os gases dissolvidos no leite. (Ciência do Leite, 2010).

Equipamentos para determinação do índice crioscópico do leite

Ultrassom

Algumas aplicações específicas do ultrassom no setor de laticínios são encontradas na literatura para determinar o teor de gordura e existem estudos de métodos para determinar a coagulação de leite para fabricação de queijo. Pesquisas de investigação do fenômeno da atenuação acústica no leite proveniente de dois efeitos: perdas intrínsecas e perdas ligadas às partículas de gordura presentes no meio, concluíram que as perdas causadas por essas partículas são proporcionais à concentração de gordura presente na amostra. Foi verificada a relação entre parâmetros acústicos como velocidade de propagação da onda, atenuação e densidade, em função do teor de gordura presente no leite. Foram obtidas curvas de calibração, que foram utilizadas para relacionar esses parâmetros acústicos com as características do leite em função da temperatura (Nazário et al., 2009).

A tecnologia do ultrassom para determinação do índice crioscópico do leite é a utilizada pelo Ekomilk® (Figura 1), que segundo o fabricante, é um analisador automatizado multi-parâmetro de leite, que fornece resultados rápidos, em até 40 segundos, para testes como: gordura, proteína, sólidos não gordurosos, lactose, densidade, ponto de congelamento, água adicionada, pH e temperatura.

Alguns fatores podem diminuir a precisão do Ekomilk® como leite aerado, leite ácido, fase gordurosa não homogeneizada, presença de partículas estranhas (tamanhos maiores que 0.5mm podem causar desvios no resultado), conservantes, leite adulterado com aditivos como sal, açúcar e uréia, entre outros, sensor contaminado.



Figura 1. Equipamento Ekomilk® Total

Crioscópios

Esses equipamentos determinam o índice crioscópico por meio do congelamento da amostra de leite (Figura 2). O funcionamento é baseado no princípio de que a forma, mais rápida, de atingir o ponto de congelamento de uma solução é resfriar essa solução alguns graus abaixo do seu ponto de congelamento e, então, aplicar uma rápida vibração mecânica, automaticamente, quando atinge $-3,000^{\circ}\text{H}$, formando cristais de gelo. Após a vibração, esse processo gera um desequilíbrio térmico fazendo com que a solução libere calor de fusão, o que fará sua temperatura aumentar até atingir a temperatura de congelamento. A solução então permanecerá nesta temperatura por um determinado tempo denominado de *plateau* (Figura 3).



Figura 2. Crioscópio eletrônico digital Laktron® M90

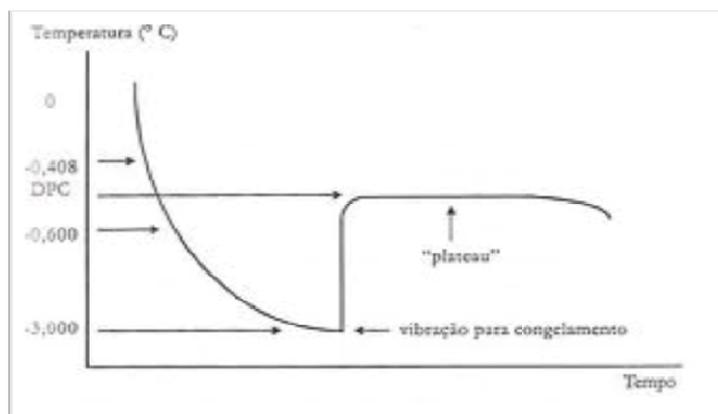


Figura 3. Curva característica do índice crioscópico (Silva, 2002)

O exame é feito pela medida do ponto de congelamento da amostra, não influenciando no resultado o teor de gordura existente, bem como os demais elementos que compõem o leite, mas tão somente a água que foi adicionada. O ponto de congelamento do leite costuma variar ligeiramente conforme a região onde o mesmo é coletado, estação do ano, raça do gado, alimentação, tempo de lactação, vacinação, etc.

Infravermelho

O princípio analítico baseia-se na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite por medição FTIR (infravermelho por transformada de Fourier). Após ser automaticamente pipetada para o interior do equipamento, uma alíquota da amostra é exposta a radiação infravermelha que possibilita determinar a concentração de cada componente. A alíquota passa por um sistema óptico que mede a energia absorvida em comprimentos de onda específicos na região infravermelha. Moléculas de gordura, proteína, lactose, e demais componentes dos sólidos totais absorvem a luz infravermelha por diferenças estruturais nas moléculas que vibram em comprimentos de ondas específicos.

O processo para quantificar o componente requer a medida e o uso de dois comprimentos de onda: referência e leitura. Para cada componente, as amostras são irradiadas no comprimento de onda de referência e no comprimento de onda de leitura. O equipamento emite um feixe de luz de radiação infravermelha que é colhida por um detector. Os sinais de pulso são detectados e por meio de uma placa são convertidos em concentração percentual do componente específico por meio da integração do

equipamento, software e gerenciador. O resultado final é então automaticamente calculado, comparando as medidas de referência com as obtidas na amostra.

Nos laboratórios da Rede Brasileira de Qualidade do Leite, as análises de composição centesimal do leite (teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais) são realizadas através de equipamentos rápidos de infravermelho MilkoScan™ (Figura 4), que analisam até 300 amostras/hora (Silveira et al., 2004; Fonseca e Fonseca, 2005). Alguns desses aparelhos têm capacidade de determinar o índice crioscópico das amostras, juntamente com os resultados de composição, ou seja, com velocidade expressivamente superior ao método convencional. No entanto, como essa metodologia não foi desenvolvida no Brasil, ainda não foi padronizada com os resultados do método oficial.



Figura 4. Equipamento MilkoScan™ por infravermelho

Situação atual das metodologias aplicadas para o índice crioscópico

Em dezanove de outubro de dois mil e dez, foi emitido ofício pela Divisão de Inspeção de Leite e Derivados/ MAPA, considerando a manifestação de diversos Fiscais Agropecuários atuantes na área de inspeção de leite e derivados, dando conta da ocorrência de discrepâncias quanto a mensuração do índice crioscópico do leite pelo equipamento Ekomilk® (cujo princípio analítico é baseado em ultrassom), quando comparada ao crioscópicos eletrônicos (método oficial, homologado através da instrução normativa nº 68/2006 SDA/MAPA) usualmente utilizados nas indústrias de laticínios revogando o OFÍCIO DILEI/DIPOA Nº 089/2004, de sete de julho de 2004 e salientando que a única metodologia para mensuração de índice crioscópico do leite aceita pelo

MAPA é baseada no uso de crioscópicos eletrônicos, conforme disposto na instrução normativa nº 68/2006 SDA/MAPA.

Considerações finais

É indiscutível a grande importância da atividade leiteira para a economia nacional, do ponto de vista interno como externo. Especificamente para o Distrito Federal, essa atividade deve ser considerada como relevante por representar base para a economia de um grande número de proprietários rurais, essencialmente de produção familiar.

O índice crioscópico é um teste considerado como de precisão pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), na identificação de fraudes por adição de água, e no Brasil, diversos trabalhos têm demonstrado ser essa, uma prática frequente em diversos estados produtores.

Atualmente, a determinação do índice crioscópico do leite tem sido obtida por meio de crioscópios que promovem o congelamento do leite, por ultrassom e infravermelho. Entretanto, o MAPA apenas aceita como oficiais os resultados obtidos por meio da utilização de crioscópios eletrônicos, tendo em vista a constatação de resultados divergentes entre as metodologias, em especial entre aqueles obtidos por meio do equipamento Ekomilk® que processa as amostras por ultrassom.

Assim, tendo em vista a escassez de pesquisas que avaliem a prática de adição de água ao leite produzido e comercializado no Distrito Federal, assim como de pesquisas que avaliem a correlação do desempenho entre as metodologias para determinação do IC, realizou-se essa pesquisa, com o objetivo de avaliar os resultados obtidos por meio da determinação do ponto de congelamento e de ultrassom, em amostras de leite cru e pasteurizado.

REFERÊNCIAS

- AAKU, E.N.; COLLISON, E.K.; GASHE, B.A. et al. Microbiological quality of milk from two processing plants in Gaborone Botswana. **Food Control**, v. 15, p.181-186, 2004.
- ADAMS, M.R.; MOSS, M.O. **Food Microbiology**, 3rd Edition, Cambridge, 2008. 463p.
- AGÊNCIA DE COMUNICAÇÃO DO GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL, 2009. **GDF e SEDEST entregam cartões do Nosso Pão, Nosso Leite**. Brasília, fev. 2009.
- ALMEIDA, G.M.; ARAÚJO, W.M.; ALMEIDA, A.M. et al. Qualidade Higiênico-sanitária do Leite Cru Refrigerado no Município de Ouro Preto do Oeste - Rondônia, Brasil. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, n. 47, ano 15, 2009.
- BADINI, K.B.; NADER FILHO, A.; AMARAL, L.A. et al. Risco à saúde representado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente. **Revista da Saúde Pública**, v. 30, n. 6, p. 549-552, 1996.
- BARROS, M.A.F. **Dossiê Técnico – Controle de qualidade físico-químico em leite fluido. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas**. Brasília: Universidade de Brasília, 2007. 20p.
- BEHMER, M.L.A. **Tecnologia do Leite**. 11.ed. São Paulo: Livraria Nobel, 1981, 320p.
- BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 4th ed. Berlin: Springer, 2009. 1070p
- BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; SOUZA, J.A., et al. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado em Cornélio Procopio, Paraná. Controle do consumo e da comercialização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 20, n. 1, p. 12-15, mar. 1999a.
- BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; FREIRE, R.L. et al. Evaluation of physicalchemical and microbiological characteristics of pasteurized milk types commercialized in Londrina city, Paraná, Brazil. **Epidemiologie et Santé Animale**, n. 31-32, p. 50-51, 1997.
- BOURROUL, G. Leite como projeto social. **Revista Leite e Derivados**, n. 107, p. 42-50, ago. 2008
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006, seção 1, p 8, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite Pasteurizado e do leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 set. Seção 1, p. 13, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62 de 18 de setembro de 2004. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, 2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set. Seção 1, p. 14, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952 e suas atualizações. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal e atualizações**. Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal – PAMVet. **Relatório 2004/2005 – Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo**. Março, 2006. 46p.

CIÊNCIADOLEITE. Análises de Rotina do Leite.2010. Disponível em <<http://www.cienciadoleite.com.br/?action=1&a=195&type=0.htm>> Acesso em 20 mai. 2011.

CQUALILEITE. Composição química do leite. 2008. Disponível em <<http://www.cquali.gov.br/data/Pages/MJ8F0048E8ITEMIDFBD8A1EB007A4CADBEF09F29C15C6431PTBRNN.htm>> Acesso em 23 mai. 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. BRITO, Maria Aparecida et al. In: Agência de informação da EMBRAPA. Agronegócio do leite. **Crioscopia**. Embrapa, 2007. Disponível em <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_185_21720039246.html> Acesso em 19 mai. 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. VIEIRA, Luiz Carlos et al. In: Embrapa Gado de leite. **Qualidade do leite**. Embrapa, 2005. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/GadoLeiteiroZonaBragantina/paginas/qualidade.htm>> Acesso em 21 mai. 2011.

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.

FAGAN, E.P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R. et al. 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. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 651-660, jul/set 2008.

FONSECA, L.M.; RODRIGUES, R.; CERQUEIRA, M.M.O.P. et al. **Situação da qualidade do leite cru em Minas Gerais - 2007/2008**, 2009. 14p.

FONTANELLI, R.S. **Fatores que afetam a composição e as características físico-químicas do leite**. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS. 2001. 25p.

FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H. **Dairy chemistry and biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1998. 478p.

FROMM, H.I.; BOOR, K.J. Characterization of pasteurized fluid milk shelf-life attributes. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 8, p. , 2004.

GIKONYO, G. M. & KLEYN, D. H. Influence of nitrogen source and fiber levels in the ration on the freezing point and chloride content of cow's milk. **Journal of Dairy Science**, v. 52, p.1379-1383, 1969.

GUERREIRO, P.K.; MACHADO, M.R.F.; BRAGA, G.C. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan/fev. 2005.

JOÃO, J.H.; PICININ, L.C.A.; OLIVEIRA, S. et al. Qualidade do leite pasteurizado e UAT comercializado no município de Lages (SC). **Revista Leite e Derivados**, n. 107, p. 86-93, ago. 2008.

LATICÍNIO.NET. Índice crioscópico - qual é a importância deste parâmetro na qualidade do leite? 2005. Disponível em < [http:// Laticinio net.com](http://Laticinio.net.com) > Acesso em 19 mai. 2011.

LEITE, C.C.; GUIMARÃES, A.G.; ASSIS, P.N. et al. Qualidade bacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador - Bahia. **Revista Brasileira de Saúde em Produtos Animais**, v. 3, n. 1, p. 21-25, 2002.

MARTINS, M.E.P.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J. et al. Qualidade do 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.

MARTINS, P.R.G.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R. et al. Produção e qualidade do leite em sistemas de produção da região leiteira de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p.212-217, jan/fev, 2007.

MILKPOINT. Estatísticas. DF: incentivo à produção de leite com qualidade.2010. Disponível em : < <http://www.milkpoint.com.br/mercado/giro-lacteo/df-incentivo-a-producao-de-leite-com-qualidade-65033n.aspx.htm>>. Acesso em 19 mai.2011.

NAZÁRIO, S. L.; ISEPONY, J. S.; BUIOCHIZ, F.; ADAMOWSKIZ, C.; KITANO, C.; HIGUTI, R.T. Caracterização de leite bovino utilizando ultra-som e Redes neurais artificiais. **Revista Controle & Automação**, V.20, N. 4, Outubro, Novembro e Dezembro 2009.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V. et al. Hazards in non-pasteurized milk on retails sale in Brazil: prevalence of *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* and chemical residues. **Brazilian Journal of Microbiology**, n.35, p. 211-215, 2004.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n. 1, p. 191-195, jan.-mar. 2005.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V. et al. Organofosforados e carbamatos no leite produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e ação sobre *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, p. 201-204, jan./mar. 2007.

NOLLET, L.M.L.; TOLDRA, F. **Advances in Food Diagnostics**. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, 2007. 368p.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artemed, 2005. v. 2, 279p.

PIRES, L. Leite sob suspeita. **Correio Braziliense**, Brasília, 24 out. 2007. 2 cad., Economia, p. 13.

PIRES, L. Leite sob suspeita. **Correio Braziliense**, Brasília, 24 out. 2007. 2. cad, Economia, p. 13. PONTES NETTO, D.; LOPES, M.O.;

SANTANA, E.H.W.; BELOTI, V.; MÜLLER, E.E. et al. Milk contamination in different points of the dairy process. ii) mesophilic, psychrotrophic and proteolytic microorganisms. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 349-358, out./dez. 2004.

SANTOS, M.V.; RENNÓ, F.P.; SILVA, L.F.P et al. Cadeia produtiva da bovinocultura leiteira no Brasil. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, ano XIV, n. 44, p. 9-15, 2008.

SILVA, M.C.D.; SILVA, J.V.L.; RAMOS, A.C.S. et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 226-230, jan.-mar. 2008.

SILVEIRA, N.F.A. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

TEBALDI, V.M.R.; OLIVEIRA, T.L.C.; BOARI, C.A. et al. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 753-760, jul./set. 2008.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 2a. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM. 2003. 192p.

Objetivo Geral

- Avaliar a equivalência do índice crioscópico do leite obtido pela utilização de ultrassom e pela determinação do ponto de congelamento.

Objetivos específicos

- Determinar o índice crioscópico do leite cru por meio da utilização de crioscópio eletrônico digital e de ultrassom.
- Determinar o índice crioscópico do leite pasteurizado por meio da utilização de crioscópio eletrônico digital e por ultrassom.
- Avaliar a ocorrência de fraude por adição de água em leite cru e pasteurizado no Distrito Federal.

DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE CRIOSCÓPICO DE LEITE CRU E PASTEURIZADO PELA UTILIZAÇÃO DE CRIOSCÓPIO ELETRÔNICO E POR ULTRASSOM

INTRODUÇÃO

O leite é uma combinação de várias substâncias na água, contendo: suspensão coloidal de pequenas partículas de caseína (micelas de caseína ligadas ao cálcio e fósforo); emulsão de glóbulos de gordura do leite e vitaminas lipossolúveis, que se encontram em suspensão; solução de lactose, proteínas solúveis em água e vitaminas. Desta forma, o leite é composto por uma mistura complexa e heterogênea de substâncias apresentando diversas propriedades físico-químicas (SANTOS & FONSECA, 2004).

Embora o leite tenha como função primordial a alimentação do neonato, ele constitui um dos alimentos mais completos que se conhece e oferece grandes possibilidades de processamento industrial para obtenção de diversos produtos para a alimentação humana (SANTOS & FONSECA, 2004).

O índice crioscópico (IC) indica a temperatura congelamento do leite, cujo valor normal para o leite com 12,5% de extrato seco total (4,75% de lactose e 0,1% de cloretos) é de $-0,531^{\circ}\text{C}$ ($-0,550^{\circ}\text{H}$). O IC do leite é determinado, principalmente, pelos elementos solúveis do leite, em especial a lactose. A adição de água no leite causa alteração no ponto crioscópico, ocorrendo aumento da temperatura de congelamento do leite (SILVA et al., 2008).

Cardoso & Araújo (2003) ressaltaram que o ponto crioscópico alterado indica adição de água ao leite, uma vez que esta é uma das características mais constantes do leite, variando muito pouco em função da raça, clima, e outros fatores. Entretanto, Santos & Fonseca, 2004 afirmam que, ainda que seja uma característica muito usada para indicar a adulteração do leite pela adição de água, alguns estudos indicam que a crioscopia do leite pode sofrer influência da fase de lactação, estação do ano, clima, latitude, alimentação e raça.

A crioscopia é um teste considerado como de precisão pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), na identificação de fraudes por adição de água, sendo que os valores de IC considerados dentro do padrão devem ser de no máximo $-0,530^{\circ}\text{H}$ (BRASIL, 1997; BRASIL, 2002; BRASIL, 2003).

No Brasil, diversos trabalhos já demonstraram que a adição de água ao leite, é uma prática fraudulenta frequente em diversos estados produtores (MESQUITA et al., 1996; BELOTI et al., 1999; SILVA et al., 2008; MATTOS et al., 2010, Silva, 2010).

Nos últimos anos, diversos governos estaduais e o Governo do Distrito Federal (GDF) implantaram programas incluindo o leite como um alimento essencial, com o objetivo de vencer o desafio de garantir alimento às crianças que vivem em condição de miséria, acabar com a desnutrição e criar subsídios para que elas conquistem uma vida melhor. A determinação do GDF é solucionar de forma imediata e eficaz o problema da fome, reconhecido como o mais urgente drama social do país. Neste programa, atualmente são entregues 62 mil litros de leite por dia e o programa atende diariamente 66 mil crianças carentes de seis meses a sete anos de idade. O leite distribuído pelo Pró-FAMÍLIA é adquirido de 44 fornecedores, o que tem proporcionado a ampliação de oportunidades no mercado de trabalho.

Em 2005, doze empresas contratadas pela Secretaria de Solidariedade do Distrito Federal foram acusadas de adulterar o leite distribuído aos beneficiários do Programa Todas foram multadas e três delas tiveram os contratos rescindidos por já possuírem histórico de irregularidades. Os resultados das análises indicaram que produto fornecido pelas empresas continha soro e água em excesso. De acordo com as normas do MAPA, a inclusão do primeiro elemento diminui o teor nutritivo do leite e pode prejudicar a saúde de pessoas mais frágeis e a adição de água caracteriza fraude, práticas totalmente inadmissíveis e que devem ser coibidas.

Atualmente, a determinação do IC do leite tem sido obtida por meio de crioscópios que promovem o congelamento do leite, por ultrassom e infravermelho. Entretanto, o MAPA apenas aceita como oficiais, os resultados obtidos por meio da utilização de crioscópios eletrônicos, tendo em vista a constatação de resultados divergentes entre as metodologias, em especial entre aqueles obtidos por meio do equipamento Ekomilk® que processa as amostras por ultrassom.

Assim, tendo em vista a escassez de pesquisas que avaliem a prática de adição de água ao leite produzido e comercializado no Distrito Federal, assim como de pesquisas que avaliem a correlação do desempenho entre as metodologias para determinação do IC, realizou-se essa pesquisa, com o objetivo de avaliar os resultados obtidos por meio da determinação do ponto de congelamento e de ultrassom, em amostras de leite cru e pasteurizado.

MATERIAL E MÉTODOS

Colheita das amostras

As amostras de leite cru (n=20) provenientes de leite de conjunto de diversos produtores foram colhidas conforme o preconizado pelo *Standard Methods of Examination of Dairy Products* (Wher, 2004), acondicionadas em frascos estéreis (100mL). As amostras de leite pasteurizado (n=20) foram colhidas de diversos pontos comerciais do Distrito Federal. Todas as amostras foram mantidas sob temperatura de refrigeração e, transportadas para o Laboratório de Análises de Leite e Derivados, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da UnB, para processamento imediato.

Determinação do índice crioscópico (IC)

As análises de crioscopia foram realizadas em equipamento crioscópio eletrônico digital da marca Laktron®-M-90, e em equipamento analisador ultrassônico, marca Ekomilk® Total. Para as análises realizadas em crioscópio eletrônico, foram pipetados 2,5mL em tubos específicos para uso nesse equipamento e cada amostra foi analisada em duplicata, sendo o resultado final expresso em graus Hortvet (°H).

Para as análises realizadas em equipamento ultrassônico, foram utilizados cerca de 20mL em cada recipiente específico e o fator de equivalência obtido foi convertido em H° conforme tabela de conversão fornecida pelo fabricante (Anexo 1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises das amostras de leite cru (LC) estão contidos na Tabela 1 e das amostras de leite pasteurizado (LP) na Tabela 2. O critério estabelecido pela legislação vigente para IC considerado dentro do padrão é de no máximo $-0,530^{\circ}\text{H}$ (BRASIL, 2002). Com relação às amostras de LC, cinco (20%) apresentaram IC acima de $-0,530^{\circ}\text{H}$ quando analisadas pelo crioscópio e 10 (50%) apresentaram IC acima do padrão estabelecido quando analisadas pelo equipamento ultrassônico.

Tabela 1. Resultados obtidos na análise de crioscopia por meio de equipamento crioscópio e por equipamento Ekomilk® ultrassônico, de amostras de leite cru (n=20) produzido no Distrito Federal.

<i>Amostras</i>	<i>Crioscópio(H°)</i> <i>(Ho)</i>	<i>Água</i> <i>adicionada(%)</i>	<i>Ekomilk®</i> <i>(H°)</i>	<i>Fator de</i> <i>equivalência</i>	<i>Água</i> <i>adicionada</i> <i>(%)</i>
1	- 0, 536	0	- 0, 531	51,3	0
2	- 0, 521	3,51	- 0, 395	38,1	25,55
3	- 0, 537	0	- 0, 492	47,5	7,19
4	- 0, 541	0	- 0, 438	35,5	17,35
5	- 0, 545	0	- 0, 550	54,3	0
6	- 0, 544	0	- 0, 531	51,3	0
7	- 0, 508	5,92	- 0, 519	50,1	2,11
8	- 0, 539	0	- 0, 550	53,2	0
9	- 0, 479	11,29	- 0, 482	46,5	9,14
10	- 0, 538	0	- 0, 530	51,2	0
11	- 0, 534	0	- 0, 550	53,1	0
12	- 0, 541	0	- 0, 516	49,8	2,69
13	- 0, 542	0	- 0, 493	47,6	6,99
14	- 0, 543	0	- 0, 540	52,1	0
15	- 0, 536	0	- 0, 550	53,9	0
16	- 0, 536	0	- 0, 522	50,4	1,52
17	- 0, 529	2,03	- 0, 402	38,8	24,19
18	- 0, 538	0	- 0, 550	53,8	0
19	- 0, 539	0	- 0, 510	49,2	3, 87
20	- 0, 548	0	- 0, 540	52,1	0
<i>Média</i>	<i>-0,533</i>	<i>1,1375</i>	<i>-0,509</i>	<i>-</i>	<i>4,670</i>
<i>Variância</i>	<i>0,000245</i>	<i>7,995268</i>	<i>0,002253</i>	<i>-</i>	<i>84,3705</i>
<i>Desvio P.</i>	<i>0,015654</i>	<i>2,827591</i>	<i>0,047467</i>	<i>-</i>	<i>9,185346</i>

Tabela 2. Resultados obtidos na análise de crioscopia por meio de equipamento crioscópio e por equipamento Ekomilk® ultrassônico, de amostras de leite pasteurizado (n=20) comercializado no Distrito Federal.

<i>Amostras</i>	<i>Crioscópio(H°)</i>	<i>Água adicionada(%)</i>	<i>Ekomilk® (H°)</i>	<i>Fator de equivalência</i>	<i>Água adicionada(%)</i>
1	- 0, 531	1,66	- 0, 521	50,3	1,72
2	- 0, 538	0	- 0, 550	54,8	0
3	- 0, 530	0	- 0, 549	53,0	0
4	- 0, 524	2,96	- 0, 527	50,9	0,54
5	- 0, 524	2,96	- 0, 540	52,1	0
6	- 0, 528	2,22	- 0, 544	52,5	0
7	- 0, 522	3,33	- 0, 519	50,1	2,11
8	- 0, 525	2,77	- 0, 543	52,4	0
9	- 0, 508	5,92	- 0, 522	50,4	1,52
10	- 0, 519	3,88	- 0, 519	50,1	2,11
11	- 0, 533	0	- 0, 550	53,9	0
12	- 0, 522	3,33	- 0, 523	50,5	1,32
13	-0, 531	0	- 0, 505	48,8	4,65
14	- 0, 519	3,88	- 0, 548	52,9	0
15	- 0, 520	3,7	- 0, 535	51,7	0
16	- 0, 531	0	- 0, 539	52,0	0
17	- 0, 534	0	- 0, 528	51,0	0,35
18	- 0, 521	3,51	- 0, 537	51,9	0
19	- 0, 507	6,11	- 0, 526	50,8	0,74
20	- 0, 511	5,37	- 0, 525	50,7	0,93
Média	-0,523	2,558	-0,532	-	0,7995
Variânci	0,0000723	4,46335	0,000164	-	1,421659
Desvio P.	0,00850325	2,112664	0,012812	-	1,192333

As análises das amostras de LP mostraram que 13 (65%), apresentaram IC acima do padrão quando analisadas pelo crioscópio e 10 (50%) quando analisadas pelo equipamento ultrassônico. Assim, no total das amostras (n=40) o crioscópio detectou 17 (42,5%) com IC acima do padrão e o equipamento ultrassônico detectou 20 amostras (50%) alteradas.

Ainda, foi possível observar que os dois equipamentos utilizados nessa pesquisa apresentaram resultados coincidentes em 13 amostras (65%) de LC e em 11 amostras (55%) em amostras de LP, ou seja, tanto em acordo quanto em desacordo com o padrão estabelecido. Por outro lado, a comparação dos resultados divergentes entre os dois equipamentos foi de sete amostras de LC (35%) e nove de LP (45%).

Na avaliação do desempenho dos dois equipamentos na detecção de amostras com resultados coincidentes para IC acima de $-0,530^{\circ}\text{H}$, observou-se três amostras de LC (15%) e sete amostras de LP (35%) nessas condições, totalizando resultados coincidentes apenas em 25% das amostras ($n=40$).

O IC máximo observado nas amostras de LC analisadas pelo crioscópio foi $-0,479^{\circ}\text{H}$ (amostra 9) e $-0,395^{\circ}\text{H}$ pelo Ekomilk® (amostra 2) enquanto que nas amostras de LP, o IC máximo detectado pelo crioscópio foi $-0,507^{\circ}\text{H}$ (amostra 19) e $-0,505^{\circ}\text{H}$ (amostra 13) pelo Ekomilk®.

Na literatura científica, praticamente são ausentes os trabalhos que avaliem o desempenho de equipamentos para determinação do índice crioscópico do leite, principalmente os que utilizam metodologia por ultrassom.

Venturoso et al., 2007, em pesquisa realizada com o objetivo de comparar os métodos oficiais de determinação de extrato seco desengordurado, proteína, gordura e densidade com metodologia de ultrassom na análise de vários produtos lácteos como leites de origem convencional e orgânica, leites fermentados comerciais, bases lácteas para leites fermentados e, soro de queijo, concluíram que os resultados de extrato seco desengordurado, proteína, gordura e densidade obtidos por ultrassom correlacionam-se àqueles das análises oficiais em leites, soro de queijo e produtos fermentados, exceto proteína nos leites fermentados. Entretanto os autores não avaliaram o IC por essa metodologia.

Gomes et al., 2006 determinaram a densidade, teor de gordura, EST e ESD por meio de análise eletrônica com a utilização do aparelho de ultrassom Ekomilk® e verificaram, pelo estudo de correlação simples entre os métodos de referência e eletrônico foi possível verificar correlações positivas ao nível de 1% para todas as variáveis exceto o ESD que apresentou correlação positiva de 5%. Além disso, observaram-se menores valores de correlação para ESD e EST. O método eletrônico não apresentou eficiência

nas determinações de EST, ESD, densidade e teor de gordura.

Silveira et al, 2004, avaliaram os teores de gordura, lactose, proteína e sólidos totais do leite, por métodos de referência e por analisador de infravermelho e os resultados obtidos na análise eletrônica não foram diferentes daqueles feitos por métodos de referência, concluindo que a análise eletrônica pode ser utilizada com segurança na avaliação da composição do leite bovino.

Por outro lado, Barcelos et al., 2010, afirmam que os resultados obtidos na análise eletrônica na determinação da qualidade físico-química do leite bovino, foram diferentes dos realizados pelos métodos de referência concluindo que o método eletrônico não é eficiente na análise de algumas variáveis, sendo ineficaz na avaliação da densidade e do ESD, eficiente na avaliação do EST e, principalmente do teor de gordura nas condições que o presente estudo foi realizado.

Em 2010, a Divisão de Leite do MAPA considerando a manifestação junto à DILEI de diversos Fiscais Agropecuários atuantes na área de inspeção de leite e derivados, dando conta da ocorrência de discrepâncias quanto à mensuração do IC do leite pelo equipamento Ekomilk®, decide que a única metodologia para mensuração desse índice aceita é a baseada no uso de crioscópios eletrônicos, conforme disposto na Instrução Normativa nº 68/2006 SDA/MAPA. As mensurações dos outros parâmetros como temperatura, pH, proteína, lactose, gordura, sólidos não gordurosos e condutividade elétrica continuam sendo aceitas por essa metodologia.

Baseado nessa determinação, as análises realizadas por meio de crioscópio devem ser consideradas como metodologia padrão e a crioscopia, conforme determinado pelo artigo 536 do RIISPOA, no item 1 de seu parágrafo único, é considerada uma prova de precisão para avaliar fraude no leite e seu descarte quando comprovada.

De acordo com diversas pesquisas realizadas, essa é a fraude mais recorrente e uma das principais causas de condenação de volumes consideráveis de leite no Brasil (FONSECA et al., 1995; BELOTI et al., 1998; BELOTI et al., 1999; ZOCHE et al, 2002; MESQUITA et al., 2006; SILVA et al., 2008; MATTOS et al., 2010; MIGUEL et al., 2010; MENDES et al., 2010).

Os resultados obtidos nessa pesquisa demonstraram que 20% das amostras de LC e 65% das amostras de LC estavam fraudadas por adição de água. A maior porcentagem de água adicionada foi observada na amostra 9 de LC (11,29%) , porém a maior frequência de fraude foi observada nas amostras de LP.

As médias dos IC das amostras de LC, obtidas pelas análises no crioscópio foi de $-0,533^{\circ}\text{H}$ e pelo ultrassom foi de $-0,509^{\circ}\text{H}$, demonstrando discrepância entre os resultados fornecidos pelos dois equipamentos utilizados e, que ocorre fraude, por adição de água na matéria prima produzida no Distrito Federal.

Ainda, a média dos IC das amostras de LP obtidas pelo crioscópio foi de $-0,523^{\circ}\text{H}$ e pelo ultrassom foi de $-0,533^{\circ}\text{H}$ pelo, também demonstrando diferenças entre os resultados e adição de água ao produto final.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos comprovam que a metodologia para determinação do índice crioscópico do leite utilizando equipamento ultrassom, apresenta resultados discrepantes quando comparada com a metodologia oficial que determina o ponto de congelamento do leite, entretanto são necessários mais estudos que avaliem de forma mais específica essas metodologias.

Ainda, pode-se concluir que a ocorrência de fraude por adição de água é maior no produto final, sendo necessárias medidas de controle de qualidade e de fiscalização mais efetivas nos laticínios do Distrito Federal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARCELOS, S.S.; ALVES, K.S.; GOMES, D. I.; OLIVEIRA, L. R. S.; BARBOSA, C. V. **Eficiência da análise eletrônica na determinação da qualidade físico-química do leite bovino, Parauapebas, p. 1-5, 2010.** Extraído de: <http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/artigos-cientificos/nutricao-ruminantes/3537-Efificincia-anlise-eletrnica-determinao-qualidade-fsico-qumica-leite-bovino.html?print>

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite: leite, queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização, análise.** 13.ed. São Paulo: Nobel, 1984.

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

BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; NERO, L.A.; SOUZA, J.A.; SANTANA, E.H.W.; TEIXEIRA, A.C.M. **Crioscopia study of raw and pasteurized milks suppliers from 03 milk industries of Londrina city, Paraná State, Brazil.** In: Congresso Panamericano de Control de Mastitis y Calidad de la Leche, 23., 1998, Mérida, Yucatan-México. Apresentação de Trabalho. 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. LANARA. Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II. Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura da Pecuária e Abastecimento. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Inspeção Industrial e Sanitária do Leite e Derivados, cap. I, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade de leite tipo A, tipo B, tipo C e cru refrigerado. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 29 set. 2002, p. 13, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 8 de janeiro de 2004. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 2 de maio de 2003, p. 3, Seção 1.

CARDOSO, L.; ARAÚJO, W.M.C. Parâmetros de qualidade em leites comercializados no Distrito Federal, no período 1997-2001. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.114/115, p.34-40, 2003.

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.

GOMES, Í. D.; ALVES, K. S.; LIMA, E. V.. Correlação entre os métodos de referência e análise eletrônica na determinação da qualidade físico-química do leite bovino no sudeste do estado do Pará. In: ZOOTEC, 2006, Recife. **Anais**. Recife: ABZ, 2006. CD-ROM.

MESQUITA, A.J.; OLIVEIRA, A.N.; NICOLAU, E.S.; NUNES, I.A.; LAGE, M.E. Qualidade microbiológica e físico-química do leite integral pasteurizado pelo processo lento em propriedades rurais do estado de Goiás. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária**, v.26, n.1, p.79-87, 1996.

MATTOS, M.R.; BELOTI, V.; TAMANINI,R.; MAGNANI, D. F.; NERO, L. A.; BARROS, M. A. F.; PIRES, E. M. F.; PAQUEREAU, B. P. D. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 173-182, jan./mar. 2010.

MENDES, C. G.; SAKAMOTO, S. M.; SILVA, J. B. A.; JÁCOME, C.G.M.; LEITE, A.I. Análises físico-químicas e pesquisa de fraude no leite informal comercializado no município de Mossoró, RN. **Ciências Animais Brasileiras**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 349-356, abr./jun. 2010.

MIGUEL, G. Z.; MAGALHÃES, M. C.; JULIANO, L.; GERON, V.; BOTINI, T.; SAENZ; E. C.; CRUZ, C. Caracterização Físico-Química de Leite obtido de diferentes Tipos de Comercialização em Pontes e Lacerda – MT, **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.8, n.1, p.103- 111, 2010.

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 de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p.226-230, 2008.

SILVEIRA, T. M. L. Comparação entre os métodos de referência e a análise eletrônica na determinação da composição do leite bovino. **Arquivo Brasileiro de medicina veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.56, n.6, p. 782-787, 2004.

SILVA, Patrícia Helena Caldeira. **Leite produzido e beneficiado no Distrito Federal e região entorno**: adequação às normas estabelecidas pela Instrução Normativa nº 51. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2010. 80 p.

VENTUROSO, R. C.; ALMEIDA, K. E.; RODRIGUES, A. M.; DAMIN, M. R.; OLIVEIRA, M. N. Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultra-som **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, vol.43, n.4, São Paulo Oct./Dec., 2007.

WHER, M. *Standard Methods for the examination of dairy products*. 17^a ed. Washington: **American Public Health Association**, 2004.

ZOCHE, F.; BERSOT, L.S.; BARCELLOS, V.C.; PARANHOS, J.K.; ROSA, S.T.M.; RAYMUNDO, N.K. Qualidade Microbiológica e Físico-Química do Leite Pasteurizado produzido na Região Oeste do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, p.59-67, 2002.

ANEXOS

Tabela de conversão fornecida pelo fabricante Ekomilk®.

TABELA DE CONVERSÃO

°H	FP °C	Fraude (%)	°H	FP °C	Fraude (%)	°H	FP °C	Fraude (%)
-0,550	53,10	0,00	-0,494	47,70	6,80	-0,438	42,30	17,35
-0,549	53,00	0,00	-0,493	47,60	6,99	-0,437	42,20	17,54
-0,548	52,90	0,00	-0,492	47,50	7,19	-0,436	42,10	17,74
-0,547	52,80	0,00	-0,491	47,40	7,38	-0,435	42,00	17,93
-0,546	52,70	0,00	-0,490	47,30	7,58	-0,434	41,90	18,13
-0,545	52,60	0,00	-0,489	47,20	7,77	-0,433	41,80	18,32
-0,544	52,50	0,00	-0,488	47,10	7,97	-0,432	41,70	18,52
-0,543	52,40	0,00	-0,487	47,00	8,16	-0,431	41,60	18,72
-0,542	52,30	0,00	-0,486	46,90	8,36	-0,430	41,50	18,91
-0,541	52,20	0,00	-0,485	46,80	8,55	-0,429	41,40	19,11
-0,540	52,10	0,00	-0,484	46,70	8,75	-0,428	41,30	19,30
-0,539	52,00	0,00	-0,483	46,60	8,95	-0,427	41,20	19,50
-0,537	51,90	0,00	-0,482	46,50	9,14	-0,426	41,10	19,69
-0,536	51,80	0,00	-0,481	46,40	9,34	-0,425	41,00	19,89
-0,535	51,70	0,00	-0,479	46,30	9,53	-0,424	40,90	20,08
-0,534	51,60	0,00	-0,478	46,20	9,73	-0,423	40,80	20,28
-0,533	51,50	0,00	-0,477	46,10	9,92	-0,421	40,70	20,47
-0,532	51,40	0,00	-0,476	46,00	10,12	-0,420	40,60	20,67
-0,531	51,30	0,00	-0,475	45,90	10,31	-0,419	40,50	20,86
-0,530	51,20	0,00	-0,474	45,80	10,51	-0,418	40,40	21,06
-0,529	51,10	0,15	-0,473	45,70	10,70	-0,417	40,30	21,26
-0,528	51,00	0,35	-0,472	45,60	10,90	-0,416	40,20	21,45
-0,527	50,90	0,54	-0,471	45,50	11,09	-0,415	40,10	21,65
-0,526	50,80	0,74	-0,470	45,40	11,29	-0,414	40,00	21,84
-0,525	50,70	0,93	-0,469	45,30	11,49	-0,413	39,90	22,04
-0,524	50,60	1,13	-0,468	45,20	11,68	-0,412	39,80	22,23
-0,523	50,50	1,32	-0,467	45,10	11,88	-0,411	39,70	22,43
-0,522	50,40	1,52	-0,466	45,00	12,07	-0,410	39,60	22,62
-0,521	50,30	1,72	-0,465	44,90	12,27	-0,409	39,50	22,82
-0,520	50,20	1,91	-0,464	44,80	12,46	-0,408	39,40	23,01
-0,519	50,10	2,11	-0,463	44,70	12,66	-0,407	39,30	23,21
-0,518	50,00	2,30	-0,462	44,60	12,85	-0,406	39,20	23,40
-0,517	49,90	2,50	-0,461	44,50	13,05	-0,405	39,10	23,60
-0,516	49,80	2,69	-0,460	44,40	13,24	-0,404	39,00	23,80
-0,515	49,70	2,89	-0,459	44,30	13,44	-0,403	38,90	23,99
-0,514	49,60	3,08	-0,458	44,20	13,63	-0,402	38,80	24,19
-0,513	49,50	3,28	-0,457	44,10	13,83	-0,401	38,70	24,38
-0,512	49,40	3,47	-0,456	44,00	14,03	-0,400	38,60	24,58
-0,511	49,30	3,67	-0,455	43,90	14,22	-0,399	38,50	24,77
-0,510	49,20	3,87	-0,454	43,80	14,42	-0,398	38,40	24,97
-0,508	49,10	4,06	-0,453	43,70	14,61	-0,397	38,30	25,16
-0,507	49,00	4,26	-0,452	43,60	14,81	-0,396	38,20	25,36
-0,506	48,90	4,45	-0,450	43,50	15,00	-0,395	38,10	25,55
-0,505	48,80	4,65	-0,449	43,40	15,20	-0,394	38,00	25,75
-0,504	48,70	4,84	-0,448	43,30	15,39	-0,392	37,90	25,94
-0,503	48,60	5,04	-0,447	43,20	15,59	-0,391	37,80	26,14
-0,502	48,50	5,23	-0,446	43,10	15,78	-0,390	37,70	26,34
-0,501	48,40	5,43	-0,445	43,00	15,98	-0,389	37,60	26,53
-0,500	48,30	5,62	-0,444	42,90	16,18	-0,388	37,50	26,73
-0,499	48,20	5,82	-0,443	42,80	16,37	-0,387	37,40	26,92
-0,498	48,10	6,01	-0,442	42,70	16,57	-0,386	37,30	27,12
-0,497	48,00	6,21	-0,441	42,60	16,76	-0,385	37,20	27,31
-0,496	47,90	6,41	-0,440	42,50	16,96	-0,384	37,10	27,51
-0,495	47,80	6,60	-0,439	42,40	17,15	-0,383	37,00	27,70

PONTO DE CONGELANTE ACIMA DO ÍNDICE, VERIFICAR O SEGUINTE

A) SE A AMOSTRA ESTÁ HOMOGÊNEA

B) SE A ACIDEZ ESTÁ NORMAL

C) SE EXISTE FRAUDE TAIS COMO: SUBSTÂNCIAS ALCALINA, CLORETOS, SACAROSE, URINA ETC