

Documentos

ISSN 0103-9865
Outubro, 2014

158

Qualidade físico-química, higiênico-sanitária e composicional do leite cru

**Indicadores e aplicações práticas
da Instrução Normativa 62**

ISSN 0103-9865
Outubro, 2014

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Rondônia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 158

**Qualidade físico-química, higiênico-
sanitária e composicional do leite cru**

**Indicadores e aplicações práticas da Instrução
Normativa 62**

Juliana Alves Dias
Fabiane Goldschmidt Antes

Porto Velho, RO
2014

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Rondônia

BR 364 km 5,5, Caixa Postal 127, CEP 76815-800, Porto Velho, RO

Telefones: (69) 3901-2510, 3225-9387, Fax: (69) 3222-0409

www.embrapa.br/rondonia

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê de Publicações

Presidente: *Cléberson de Freitas Fernandes*

Secretárias: *Marly de Souza Medeiros e Sílvia Maria Gonçalves Ferradaes*

Membros:

Marília Locatelli

Rodrigo Barros Rocha

José Nilton Medeiros Costa

Ana Karina Dias Salman

Luiz Francisco Machado Pfeifer

Fábio da Silva Barbieri

Maria das Graças Rodrigues Ferreira

Normalização: *Daniela Maciel*

Editoração eletrônica: *Marly de Souza Medeiros*

Revisão gramatical: *Wilma Inês de França Araújo*

1ª edição

1ª impressão (2014): 100 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Rondônia

Dias, Juliana Alves.

Qualidade físico-química, higiênico-sanitária e composicional do leite cru: indicadores e aplicações práticas da Instrução Normativa 62 / Juliana Alves Dias, Fabiane Goldschmidt Antes . -- Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2014.

19 p. (Documentos / Embrapa Rondônia, ISSN 0103-9865; 158).

1. Produção Animal – Leite. 2. Leite – Qualidade. 3. Instrução normativa. I. Antes, Fabiane Goldschmidt. II. Título. III. Série.

CDD(21.ed.) 636.214

© Embrapa - 2014

Autores

Juliana Alves Dias

Médica Veterinária, D.Sc. em Sanidade Animal, pesquisadora da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO.

Fabiane Goldschmidt Antes

Química Industrial, D.Sc em Química Analítica, analista da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO.

Sumário

Introdução	7
Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite	8
Avaliação dos indicadores previstos na legislação	9
Parâmetros avaliados na propriedade rural	9
Parâmetros avaliados em laboratórios das indústrias de laticínios	10
Parâmetros avaliados nos laboratórios credenciados ao MAPA	14
Considerações finais	18
Referências	18

Qualidade físico-química, higiênico-sanitária e composicional do leite cru

Indicadores e aplicações práticas da Instrução Normativa 62

Juliana Alves Dias

Fabiane Goldschmidt Antes

Introdução

Dentro dos aspectos envolvendo a cadeia produtiva do leite, a qualidade é um ponto de extrema importância como garantia de alimento seguro e com qualidade nutricional para o consumidor, bem como o aumento da vida de prateleira e o rendimento industrial para produção de derivados lácteos.

Na década de 1990, a baixa qualidade do leite e a desestruturação da cadeia produtiva foram alvo de discussões entre os diferentes atores da cadeia produtiva do leite. Em 1996, por iniciativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e de representantes da comunidade científica foi criado o “Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite – PNQL” (OLIVEIRA et al., 2000). O PNQL teve início em função dos resultados de diversos estudos, que indicaram que as perdas econômicas na cadeia produtiva do leite eram decorrentes, principalmente, da elevada acidez do leite e do alto índice de incidência de mastite nos rebanhos brasileiros. Além destes fatores, foram consideradas as perdas no transporte, na transformação da matéria-prima e a curta vida de prateleira dos produtos lácteos por causa da baixa qualidade do leite (OLIVEIRA et al., 2000). A proposta do PNQL representou um avanço para o setor lácteo, pois visava a padronização da qualidade da matéria-prima e o combate a comercialização informal (DÜRR, 2004).

Neste contexto, em 2002, com o objetivo de padronizar o leite produzido no país, o MAPA publicou a Instrução Normativa nº 51 (IN 51) (BRASIL, 2002), que determina as normas de produção, identidade e qualidade do leite, além de regulamentar a coleta do leite cru refrigerado na propriedade e seu transporte a granel ao laticínio (BRASIL, 2002). Neste mesmo ano, foi instituída também pelo MAPA, a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite (RBQL) pela Instrução Normativa 37 (IN 37), com a finalidade de dar suporte analítico à implantação da IN 51 no país. O MAPA criou a RBQL a partir dos laboratórios já existentes nas regiões sul, sudeste e centro-oeste do país. De acordo com a IN 51, mensalmente amostras de leite cru granelizado devem ser encaminhadas para análise dos indicadores higiênico-sanitários e composicionais em laboratórios credenciados ao MAPA e pertencentes à RBQL.

Levantamento realizado pela RBQL, considerando as análises de leite realizadas no período de 2007 a 2010, demonstrou que o percentual de amostras que atenderam aos parâmetros de Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Total Bacteriana (CTB) não sofreu alterações significativas desde a implantação da IN 51. Desta forma, em 2011 foi instituída pelo MAPA a Instrução Normativa Nº 62 (IN 62), (BRASIL, 2011), que atualiza a IN 51 e define limites e prazos gradativos para o atingimento dos indicadores higiênico-sanitários (CCS e CTB) em amostras de leite de rebanhos bovinos leiteiros do país.

Considerando a importância da compreensão dos parâmetros definidos na legislação atual e adoção de boas práticas agropecuárias para obtenção de leite com qualidade, este documento tem o objetivo de orientar técnicos e produtores quanto aos requisitos mínimos e aos métodos de avaliação do leite cru, preconizados na IN 62, seus objetivos e sua aplicação prática para melhoria do leite produzido.

Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite

De acordo com a legislação, o leite, sem outra especificação, é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outras espécies de animais deve conter o nome da espécie de que proceda (BRASIL, 2011). O Regulamento Técnico proposto na IN 51 (atualizado pela IN 62) define a identidade e os requisitos mínimos do leite cru refrigerado destinado à obtenção de leite pasteurizado para consumo humano direto ou para transformação em derivados lácteos em estabelecimentos que beneficiam o leite e estão sob inspeção sanitária oficial.

A qualidade do leite é avaliada por parâmetros físico-químicos (estabilidade ao alizarol, acidez titulável, densidade relativa, índice crioscópico), de composição (gordura, proteína, extrato seco desengordurado) e por padrões higiênico-sanitários (contagem total bacteriana, contagem de células somáticas, detecção de resíduos de antibióticos). Os parâmetros higiênico-sanitários refletem a saúde dos animais, com ênfase na mastite, ausência de resíduos químicos e as condições de obtenção e armazenamento do leite.

Os requisitos físicos e químicos, composicionais, microbiológicos e de contagem de células somáticas definidos na IN 62 estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Requisitos físico-químicos, composicionais e higiênico-sanitários do leite cru refrigerado estabelecidos pela IN 62.

Parâmetros de composição e qualidade	Requisitos	Frequência de avaliação
Características sensoriais		
Aspecto e cor	Líquido branco opalescente homogêneo	Diário
Sabor e odor	Isento de sabores e odores estranhos	Diário
Requisitos gerais		
Neutralizantes da acidez e reconstituintes da densidade	Ausência	Diário
Agentes antimicrobianos	Ausência	Diário
Parâmetros físico-químicos		
Teor de gordura, g/100 g	No mínimo 3,0	Diário/mensal
Densidade relativa a 15/15°C, g/mL	1,028 a 1,034	Diário
Acidez titulável, g ácido láctico/100 mL	0,14 a 0,18	Diário
Teste do alizarol	Estável	Diário
Extrato seco desengordurado, g/100 g	No mínimo 8,4	Diário/mensal
Índice crioscópico, °H	-0,530 a -0,550 (-0,512 a -0,531 °C)	Diário
Proteínas, g/100 g	No mínimo 2,9	Mensal
Temperatura máxima de conservação do leite	7 °C na propriedade rural e 10 °C no estabelecimento processador	Diário
Parâmetros microbiológicos e CCS		
Região Norte/Nordeste		
CTB, UFC/mL		
Até 30/06/2015	600.000	01 análise mensal com média geométrica sobre período de três meses
A partir de 01/07/2015 até 30/06/2017	300.000	
A partir de 01/07/2017	100.000	
CCS, células/mL		
Até 30/06/2015	600.000	01 análise mensal com média geométrica sobre período de três meses
A partir de 01/07/2015 até 30/06/2017	500.000	
A partir de 01/07/2017	400.000	

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Parâmetros de composição e qualidade	Requisitos	Frequência de avaliação
Parâmetros microbiológicos e CCS		
Região Sul/Sudeste/Centro-Oeste		
CTB, UFC/mL		
Até 30/06/2014	600.000	01 análise mensal com média geométrica sobre período de três meses
A partir de 01/07/2014 até 30/06/2016	300.000	
A partir de 01/07/2017	100.000	
CCS, células/mL		
Até 30/06/2014	600.000	
A partir de 01/07/2014 até 30/06/2016	500.000	
A partir de 01/07/2016	400.000	

Fonte: Brasil (2011). Adaptado pelos autores.

Avaliação dos indicadores previstos na legislação

Parâmetros avaliados na propriedade rural

Características sensoriais

O leite de boa qualidade deve apresentar coloração branca opalescente e ser homogêneo, ou seja, não conter grumos ou material sólido disperso. Não deve apresentar sabores e odores estranhos (BRASIL, 2011).

Temperatura máxima de conservação do leite

O controle da temperatura de armazenamento do leite é um fator muito importante para garantir a sua conservação. Desde a sua implantação, tanto a IN 51 quanto a IN 62, determinam a obrigatoriedade do resfriamento do leite na unidade de produção e seu transporte a granel, a fim de conservar sua qualidade até a sua recepção em estabelecimentos com inspeção sanitária oficial. A temperatura ideal para a conservação do leite é 4 °C, desta forma recomenda-se que no período máximo de 3 horas após o término da ordenha, o leite sob refrigeração atinja esta temperatura. No momento da coleta do leite para o transporte à indústria admite-se que o produto esteja na temperatura de, no máximo, 7 °C e deve chegar à indústria ou no posto de recebimento com temperatura máxima de 10 °C (BRASIL, 2011). Estes cuidados são essenciais para evitar a proliferação de microrganismos e, conseqüentemente, a degradação do produto, o que causará, num primeiro momento, o aumento da acidez do leite.

Cabe destacar que o leite não pode congelar e, por isso, a importância da utilização dos tanques de expansão com sistema de homogeneização, permitindo que todo o leite armazenado seja resfriado uniformemente dentro do tanque (DÜRR, 2012).

Teste do Alizarol

O aumento da acidez do leite pode ocorrer por causa da produção de ácido láctico a partir da degradação da lactose, um dos componentes do leite, pela ação de microrganismos. Por isso, a acidez indica o estado de conservação do leite. O teste do alizarol deve ser realizado pelo responsável pela recepção do leite de cada latão antes da introdução do leite no tanque de resfriamento, no caso de tanques comunitários. No caso de tanques individuais, deve-se realizar o teste do alizarol antes da coleta do leite a granel que será levado para a indústria (BRASIL, 2011). De acordo com a legislação, se for constatado que o leite está ácido no teste do alizarol, o produto deve ser rejeitado, ou seja, não será captado para ser beneficiado pela indústria.

O teste do alizarol permite identificar se o leite está normal, ácido ou com acidez menor do que o normal (leite alcalino) e estima a estabilidade térmica do leite, simulando o processo que o leite será submetido na indústria. O leite com baixa estabilidade térmica é identificado como aquele que forma precipitado ou grumos quando exposto ao teste do álcool ou fervura, e por

este motivo é rejeitado. O teste é feito usando uma solução saturada de alizarina preparada em álcool 72% volume/volume (v/v) e que pode ser obtida em lojas especializadas. Para realização do teste, são misturados volumes iguais da solução de alizarol e da amostra de leite. A leitura do teste se dá pela observação da coloração da mistura e também pela observação se houve ou não coagulação ou formação de grumos (Figura 1). O leite em condições adequadas para captação deve apresentar coloração de rosa a lilás e sem coagulação, o que demonstra que o leite está com acidez normal (pH de 6,8 a 6,6). Se houver a formação de coloração amarela ou a presença de coagulação, o leite é considerado ácido. Caso o leite esteja alcalino, a mistura irá apresentar coloração arroxeadada ou violeta, tendendo para o azul (TRONCO, 1997).



Figura 1. Tubos de ensaio com amostras de leite após o teste do alizarol. Amostras com pH 5,5 e 6,0: leite ácido; amostra com pH 6,6: leite normal; amostra com pH 7,0 e 7,5: leite alcalino (SANTOS SILVA, 2013).

Parâmetros avaliados em laboratórios das indústrias de laticínios

De acordo com a legislação, os parâmetros físico-químicos do leite cru provenientes de tanques individuais e coletivos devem ser monitorados pela indústria a fim de avaliar se o leite apresenta qualidade mínima para ser processado. A coleta da amostra de leite deve ser realizada no momento da captação do leite no tanque e também de cada compartimento do caminhão no momento da recepção na indústria. As coletas devem ser realizadas por funcionário do laticínio capacitado. Os métodos de avaliação dos parâmetros físico-químicos previstos na IN 62 estão descritos na Instrução Normativa N° 68 (BRASIL, 2006).

Acidez

O leite cru de boa qualidade possui pH entre 6,6 e 6,8, portanto é levemente ácido. Este pH é conferido pelos constituintes naturalmente presentes no leite como a caseína, fosfatos, albumina, citrato e gás carbônico dissolvido (CO₂), que tem efeito tamponante. Conforme mencionado anteriormente, o aumento da acidez do leite pode ocorrer por causa da produção de ácido lático a partir da degradação da lactose pela ação de microrganismos presentes no leite (TRONCO, 1997).

Os métodos mais usados para avaliar a acidez do leite são o teste do alizarol, que é um teste qualitativo, e a acidez titulável, que fornece um resultado quantitativo sobre a acidez da amostra de leite analisada (BRASIL, 2006). O teste do alizarol é feito na propriedade rural, conforme discutido anteriormente. Ao chegar na indústria, a determinação da acidez é feita por método quantitativo que permite medir o quanto ácido está o leite. A acidez titulável do leite é determinada por uma titulação ácido-base, utilizando uma solução padrão de hidróxido de sódio 0,111 N como titulante. Na prática, o que se mede é o volume de hidróxido de sódio necessário para neutralizar o ácido lático presente no leite. O resultado da titulação é expresso em gramas de ácido lático/100 mL de amostra ou % ácido lático (BRASIL, 2006).

Em alguns países, principalmente França e Holanda, a acidez é expressa em graus Dornic ($^{\circ}\text{D}$), sendo que 1 $^{\circ}\text{D}$ equivale a 0,01% de ácido láctico. Esta forma de expressar a acidez também é usada no Brasil. Assim, de acordo com a IN 62, o leite é considerado normal se apresentar acidez entre 0,14% e 0,18% ou 14 $^{\circ}\text{D}$ a 18 $^{\circ}\text{D}$ (BRASIL, 2011). Em termos de valores de pH, este intervalo corresponde a faixa de pH de 6,6 e 6,8.

Densidade relativa

A densidade é a relação entre a massa e o volume de uma substância. Esta relação está diretamente relacionada à composição química que, no leite, é de cerca de 12% a 13% de matéria sólida (sólidos totais) e 87% a 88% de água. Embora os sólidos totais sejam formados por uma grande quantidade de moléculas diferentes, majoritariamente, esta fração do leite é formada por gordura, proteína, lactose e sais minerais. Desta forma, a densidade do leite é influenciada pela concentração destas substâncias.

De acordo com a legislação, o leite fresco e de boa qualidade deve apresentar densidade relativa entre 1,028 g/mL e 1,034 g/mL, na temperatura de 15 $^{\circ}\text{C}$ (BRASIL, 2011). O aumento no teor de proteína, lactose e sais minerais causa aumento na densidade, enquanto que o aumento no teor de gordura e a fraude do leite com adição de água causam a diminuição da densidade. A medida da densidade por si só é insuficiente para avaliar a composição, mas o resultado permite inferir de forma aproximada sobre a composição do leite, principalmente com relação ao teor de gordura. Além disso, resultados de densidade fora do intervalo considerado normal também podem indicar possível adulteração com a adição de água (ZENEON et al., 2008).

A densidade é um parâmetro físico-químico influenciado pela temperatura. À medida que a temperatura aumenta, a densidade do leite diminui. Para avaliar a densidade, a temperatura em que o leite se encontra deve ser observada e, de acordo com a IN 62, o resultado é corrigido e expresso na temperatura de 15 $^{\circ}\text{C}$. Por isso, este parâmetro é chamado de densidade relativa (TRONCO, 1997).

A densidade é medida usando uma vidraria chamada termolactodensímetro, que possui escala para a medida da densidade e também um termômetro para medir a temperatura do leite (Figura 2). O leite é transferido para uma proveta de vidro de 250 mL e o termolactodensímetro é inserido no leite. A leitura da densidade é feita no nível do leite em relação à escala graduada do termolactodensímetro. Ao mesmo tempo, é feita a leitura da temperatura para que seja feita a correção para a densidade a 15 $^{\circ}\text{C}$, usando uma tabela preconizada na Instrução Normativa N $^{\circ}$ 68 (BRASIL, 2006).



Foto: Fabiane Goldschmidt

Figura 2. Foto ilustrativa do termolactodensímetro.

Índice crioscópico

O índice crioscópico é uma propriedade físico-química que define a temperatura de congelamento das substâncias. No caso do leite, esta propriedade é usada para identificar a adulteração pela adição de água. A temperatura de congelamento do leite (índice crioscópico) é relativa à

concentração dos componentes que formam o extrato seco. Por isso, o índice crioscópico do leite é inferior ao da água pura, que é 0 °C. O leite de composição normal, não adulterado, possui índice crioscópico entre -0,512 °C e -0,531 °C e a adição de água faz com que o índice crioscópico se aproxime da temperatura de congelamento da água pura (ZENEON et al., 2008; BRASIL, 2006).

Atualmente, a determinação do índice crioscópico pode ser feita com equipamento eletrônico digital, chamado crioscópio, que faz o rápido resfriamento de uma amostra de 2,5 mL de leite até - 3,0 °C, seguido de imediata cristalização desta amostra, induzida por vibração mecânica. Julius Horvet, em 1920, foi o primeiro a utilizar o índice crioscópico na análise qualitativa do leite com a finalidade de detectar fraudes por adição de água. Internacionalmente, os resultados de crioscopia são expressos na escala graus Horvet (°H) que é diferente da escala Celsius (°C) (TRONCO, 1997). A relação entre ambas é dada por:

- Índice crioscópico, °H = 1,03562 x Índice crioscópico em °C
- Índice crioscópico, °C = 0,9656 x Índice crioscópico em °H

De acordo com a IN 62, o índice crioscópico pode ser expresso em °H ou em °C, sendo que o intervalo -0,512 °C e -0,531 °C corresponde a -0,530 °H e -0,550 °H (BRASIL, 2006).

Detecção de neutralizantes da acidez e reconstituintes da densidade

Neutralizantes da acidez são substâncias adicionadas, fraudulentamente, para mascarar a acidez do leite. Desta forma, o leite ácido não é detectado pelos métodos convencionais utilizados na determinação da acidez. Entretanto, é importante destacar que embora com a adição destas substâncias, a acidez é corrigida, a qualidade do produto continua ruim. Se a lactose foi degradada, isso significa que o leite como um todo está parcialmente degradado e não será possível obter derivados como queijo, iogurte e outros, de boa qualidade. Além disso, ocorre alteração no sabor e odor e, mais grave ainda, as substâncias adicionadas podem ser tóxicas e prejudiciais para a saúde.

Em geral, a comparação da acidez total com o teor de lactato é suficiente para detectar a adição de neutralizantes. Outras técnicas envolvendo a determinação do pH das cinzas do leite, bem como a acidez titulável das cinzas solúveis e as titulações diretas do filtrado ou do centrifugado após coagulação das proteínas, podem detectar a adição de carbonatos, bicarbonatos ou hidróxidos de metais alcalinos, embora requeiram parâmetros estabelecidos a partir de leites não fraudados (BRASIL, 2006).

Da mesma forma, reconstituintes da densidade são substâncias adicionadas, fraudulentamente, para “corrigir” a densidade do leite a fim de que este parâmetro fique de acordo com os valores estabelecidos na IN 62. Esta prática ocorre muitas vezes quando o leite é fraudado pela adição de água. Assim como os neutralizantes da acidez, os reconstituintes da densidade comprometem a qualidade dos derivados lácteos na indústria e podem ser prejudiciais para a saúde. São produtos adicionados para reconstituir a densidade do leite: açúcar, sal de cozinha, amido, dextrinas. A determinação geralmente é feita por meio de métodos qualitativos, visto que resultado positivo já é indicativo de fraude (BRASIL, 2006).

Detecção de agentes inibidores de crescimento microbiano e conservantes

Agentes inibidores de crescimento microbiano e conservantes são produtos químicos adicionados, também fraudulentamente, para retardar o crescimento de microrganismos ou a ação de enzimas a fim de aumentar o tempo de conservação do leite.

Os principais produtos adicionados são formaldeído, água oxigenada, ácido bórico, ácido salicílico, hipocloritos e cloraminas, ácido benzoico e bissulfitos. A detecção pode ser feita por meio de métodos qualitativos oficiais descritos na Instrução Normativa Nº 68 do MAPA (2006). É necessário fazer um ensaio específico para cada um dos contaminantes suspeitos no leite (BRASIL, 2006). Estas substâncias podem causar efeitos adversos sérios à saúde e, além disso, interferem negativamente na produção de derivados lácteos na indústria.

Teor de gordura

A gordura é um dos componentes majoritários do leite e o teor médio no leite cru é em torno de 3,9%, enquanto que a IN 62 estabelece teor mínimo de 3% (BRASIL, 2011). Diversos fatores influenciam no teor de gordura do leite como raça do animal, período de lactação, alimentação, entre outros. Para a indústria, é muito importante conhecer o teor de gordura no leite que está sendo industrializado, pois este parâmetro, juntamente com o teor dos demais constituintes do leite, influencia no rendimento dos derivados. Além disso, diversos produtos lácteos requerem que o leite usado como matéria-prima tenha teor de gordura específico para a padronização da qualidade (TRONCO, 1997).

A gordura do leite pode ser determinada por diferentes métodos: butirométrico ou Gerber, Rose-Gottlieb (métodos clássicos) e métodos instrumentais. Os métodos clássicos, por apresentarem custo relativamente baixo e simplicidade ainda são amplamente usados na indústria e recomendados entre os métodos oficiais para análise de leite (BRASIL, 2006).

O método butirométrico consiste no ataque seletivo da matéria orgânica pelo ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial. É usada uma vidraria chamada butirômetro de Gerber, onde é feita a adição de um volume conhecido de amostra e dos reagentes e ao final do procedimento a leitura do teor de gordura é feita na escala do butirômetro. Já o método de Rose-Gottlieb consiste no uso de hidróxido de amônio para solubilizar a caseína, neutralizar a acidez e reduzir a viscosidade, no uso de álcool etílico para quebrar a emulsão gordura-caseína e na mistura éter etílico/éter de petróleo para extrair a gordura. A gordura assim extraída é determinada gravimetricamente (pesagem do extrato) e o teor de gordura é calculado em relação à massa inicial de amostra de leite utilizada (BRASIL, 2006).

Nos laboratórios pertencentes à RBQL, a determinação do teor de gordura é feita por meio de um método instrumental, utilizando um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O software do equipamento utiliza um modelo matemático para calcular o teor de gordura a partir do espectro de absorvância no infravermelho próximo produzido pela amostra de leite analisada. O método instrumental apresenta boa exatidão e precisão, além de ser bastante rápido.

Extrato seco total e extrato seco desengordurado

O extrato seco total (EST) ou sólidos totais é o somatório da concentração de todos os componentes do leite exceto a água. O extrato seco desengordurado (ESD) é a diferença entre o EST e o teor de gordura. Estes parâmetros são muito importantes para a indústria, pois a partir deles é possível prever o rendimento na fabricação de derivados lácteos como queijos e outros. Em média, o EST no leite encontra-se entre 12% e 13% enquanto que, de acordo com a IN 62, o ESD deve ser de, no mínimo 8,4% (BRASIL, 2011).

Existem diferentes métodos analíticos que podem ser usados para a determinação do EST. Um deles, bastante simples, é o método gravimétrico, ou retirada de água do leite, onde o EST é determinado pelo cálculo da diferença entre a massa de uma amostra de leite e a massa da amostra dessecada, convertido para porcentagem. Entretanto, este método é demorado. O método mais usado na indústria é o cálculo que leva em consideração os resultados de densidade (D) e de teor de gordura (G), determinados previamente. Para isso, o EST é calculado pela fórmula de Fleishmann:

$$EST = 1,2 \times G + 2,665 \times \frac{(100D - 100)}{D}$$

Outra maneira de determinar o EST é pelo método do disco de Achermann, que também leva em consideração os resultados de densidade e teor de gordura do leite. É utilizado um instrumento que consiste de dois discos concêntricos que possuem escalas com valores de

densidade e gordura e uma escala externa com os valores de EST. Faz-se coincidir os valores de densidade e teor de gordura girando os discos e uma seta aponta para o valor de EST. Este método também está entre os métodos oficiais utilizados no Brasil (BRASIL, 2006).

Parâmetros avaliados nos laboratórios credenciados ao MAPA

De acordo com a IN 62, a determinação da CCS, CTB, componentes do leite cru e pesquisa de resíduos de antibióticos devem ser realizadas mensalmente em Laboratórios credenciados pelo MAPA e pertencentes à RBQL. Os resultados da CTB e CCS são avaliados considerando a média geométrica sobre um período de três meses. Para este processo são utilizados métodos analíticos internacionais da Federação Internacional de Laticínios (International Dairy Federation, IDF) e da Organização Internacional para Padronização (International Standardization Organization, ISO).

A coleta das amostras de leite é realizada pela indústria e deve seguir as recomendações do laboratório credenciado quanto aos processos de coleta e acondicionamento das amostras até a recepção no laboratório.

Contagem bacteriana total

A adoção de boas práticas associada ao resfriamento imediato do leite após a ordenha constituem pontos fundamentais para obtenção de baixas contagens de bactérias. Estudo realizado por Vallin et al. (2009), demonstrou que a implementação mínima de boas práticas de ordenha como: desprezo dos três primeiros jatos de leite, *pre-dipping* com solução clorada, higienização manual vigorosa de baldes, latões e resfriadores com detergente alcalino clorado a 2%, reduziu em média 87,90% da CTB nas propriedades avaliadas com ordenha manual e 86,99% nas propriedades com ordenha mecânica.

A CTB reflete a contaminação microbiana do leite que resulta das condições de higiene na obtenção e das condições de estocagem e armazenamento da matéria prima. O leite secretado de glândula mamária sadia possui número de bactérias variando de 100 UFC/ml a 1.000 UFC/ml. O leite cru em condições normais pode apresentar em torno de 10.000 UFC/ml, e o limite de 100.000 UFC/ml é indicativo de leite com qualidade.

O leite pode ser contaminado por microrganismos presentes no interior da glândula mamária, na superfície exterior do úbere e tetos, na superfície do equipamento de ordenha e do tanque, assim como por utensílios utilizados na ordenha (baldes, latões) e pelas mãos do ordenhador (SANTOS; FONSECA, 2001). Dessa forma, esses fatores determinam a qualidade microbiológica, e cada etapa nesse processo pode ser responsável pela inclusão de milhões de microrganismos no leite na ausência de boas práticas de higiene e manutenção (SANTANA et al., 2001). Fatores como a temperatura e tempo de armazenagem do leite são importantes, pois estão diretamente ligados à multiplicação dos microrganismos, afetando a CTB (FONSECA, 1998).

O grupo dos microrganismos aeróbios mesófilos inclui a maioria das bactérias acidificantes do leite e os patógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2008). O resfriamento do leite após a ordenha reduz significativamente a multiplicação dos aeróbios mesófilos, porém, favorece a multiplicação da microbiota psicrótrófica (SANTANA et al., 2001). Bactérias psicrótróficas são aquelas capazes de se desenvolver em temperaturas abaixo de 7 °C, sendo os principais agentes de deterioração do leite cru refrigerado e de seus derivados (FRANK et al., 1992).

Altas contagens de bactérias podem comprometer o processamento do leite e seus derivados em função de problemas de acidificação e coagulação, produção de gás, aparecimento de gosto amargo, coagulação sem acidificação, aumento de viscosidade, alteração de cor e pela produção de sabores e odores indesejáveis (LANGE; BRITO, 2000).

A determinação de CTB é feita por meio de um método instrumental baseado na citometria de fluxo. Neste método é utilizado um reagente com a capacidade de se ligar ao material genético da célula bacteriana, possibilitando que se realize a quantificação por meio de fluorescência molecular. Esta técnica consiste na adição de um corante fluorescente ao leite que tem a capacidade de ser um intercalante de ácidos nucleicos, possibilitando a detecção do DNA bacteriano. Ao receber um feixe de *laser*, cada célula emite fluorescência, a qual é captada pelo sistema óptico do equipamento e, com isso, o número de células bacterianas é determinado.

A intensidade do sinal de fluorescência é proporcional à quantidade de células bacterianas. Este sinal de fluorescência é convertido em contagem de bactérias individuais (INTERNATIONAL..., 2004a,b; 2013). A contagem total de bactérias é calculada a partir de uma equação de correlação obtida a partir da análise de amostras previamente analisadas por um método de referência. O método de referência, neste caso, é o método de contagem padrão em placas (INTERNATIONAL..., 2010). Os valores de CTB são expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC), expressa pelo total obtido em mililitros de leite (ml), ou seja UFC/ml.

Contagem de células somáticas

As células somáticas são constituídas principalmente por leucócitos e tem por objetivo a defesa do organismo. Na glândula mamária sadia, os tipos celulares predominantes são os macrófagos (35%-79%), seguido dos linfócitos (16%-28%), neutrófilos (3%-26%) e células epiteliais (2%-15%) (PAAPE; TUCKER, 1966). A CCS na glândula mamária sadia varia de 20.000 a 50.000 células/mL, entretanto considera-se o valor limite de até 100.000 células/mL para ausência de infecção intramamária.

A maioria dos leucócitos migra do sangue para a glândula mamária, em resposta a uma agressão física, química ou infecciosa sofrida pela glândula mamária. As infecções intramamárias são consideradas como o principal fator de aumento de CCS, porém outros fatores podem influenciar na variação deste indicador, como a suscetibilidade do animal em relação aos demais do rebanho, a ordem do parto, período de lactação (SCHUKKEN et al., 2003; SOUZA et al., 2009) e estação do ano (PAULA et al., 2004). Avaliações realizadas por Dohoo e Leslie (1991) demonstraram que o limite de 200.000 células/mL foi o mais indicado para estimar nova infecção intramamária.

Dentre os patógenos principais envolvidos nas infecções da glândula mamária, os mais prevalentes e associados a altas contagens de CCS no leite de tanque, são as espécies *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* (BRITO et al., 1999; KOSKINEN et al., 2008; SOUZA et al., 2009). Estes patógenos têm como reservatório principal o úbere e quando identificados em leite de tanques são altamente indicativos da presença de infecção intramamária no rebanho (BARTLETT; MILLER, 1993, GODKIN; LESLIE, 1993). A Tabela 2 mostra os dados do National Mastitis Council (NMC) (NATIONAL..., 1987) sobre as estimativas de perdas na produção e frequência de infecção de acordo com os valores de CCS.

Tabela 2. Prevalência de infecção e perdas na produção de leite associadas à elevada contagem de células somáticas em tanques de expansão.

Tanque de expansão CCS (1.000 cel/mL)	Quartos infectados no rebanho (%)	Perda na produção (%)
200	6	0
500	16	6
1.000	32	18
1.500	48	29

Fonte: National Mastitis Council (1987)

Para o controle da mastite e redução da CCS do rebanho é fundamental a implantação do programa básico de controle da mastite que inclui a adoção de boas práticas de ordenha, higiene e manutenção do equipamento, tratamento imediato dos casos clínicos, tratamento das vacas na secagem, segregação dos casos crônicos e manejo do ambiente.

Na IN 62 é prevista a determinação de CCS no leite pelo método instrumental baseado na citometria de fluxo. Neste método é utilizado um reagente com a capacidade de se ligar as células somáticas, possibilitando que se realize a quantificação por meio de fluorescência molecular semelhante à determinação da CTB. Pela análise de um volume conhecido de amostra de leite, o software do equipamento calcula a concentração de células somáticas por mL de amostra. Os equipamentos utilizados para determinação de CCS possuem também um módulo para determinação dos componentes do leite cru (Figura 3).

Os resultados laboratoriais da CCS dos rebanhos e de animais individuais devem ser analisados e as informações resultantes são úteis para orientar o gerenciamento da saúde dos rebanhos. Os resultados de tanque devem ser avaliados considerando a média geométrica dos resultados obtidos no período de três meses. As informações obtidas poderão ser utilizadas para monitorar a saúde da glândula mamária dos animais, quanto à efetividade das medidas de prevenção e tratamento das infecções; conhecer a epidemiologia da doença no rebanho (prevalência, incidência) a fim de orientar a definição de estratégias para implementação e acompanhamento de programas de controle mastite de subclínica; monitorar a eficácia dos esquemas de tratamento da mastite, principalmente a terapia à secagem; identificar deficiências de manejo e possibilitar a recomendação de procedimentos específicos e efetivos.



Foto: Fabiane Goldschmidt

Figura 3. Equipamento Combiscope FTIR 400 (Delta Instruments) utilizado para determinação de CCS e componentes do leite cru.

Componentes do leite

O leite de vacas é composto por água, gordura, proteínas, lactose, minerais e vitaminas. Os componentes do leite, com exceção da água, constituem os sólidos totais e são responsáveis pelo seu valor nutricional. O teor de sólidos determina o valor industrial do leite, pois quanto mais gordura e proteína, maior o rendimento na produção dos derivados lácteos. A média e variação dos componentes do leite bovino estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Média e variação dos componentes do leite de bovinos.

Componentes	Média (%)	Varição (%)
Água	87,3	85,5 – 88,7
Gordura	3,9	2,4 – 5,5
Sólidos não gordurosos	8,8	7,9 – 10,0
Proteína	3,25	2,8 – 4,5
Lactose	4,6	3,5 – 6,0

Fonte: Adaptado de Goff, D. Dairy Science and Technology Education, University of Guelph, Canada. <https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/dairy-science-and-technology-ebook>

A composição físico-química do leite é determinada por diferenças genéticas e de meio ambiente. Entre os fatores genéticos, a porcentagem de gordura apresenta maior variação do que de proteína entre raças (Tabela 5). As porcentagens de gordura e proteína tem alta herdabilidade ($\sim 0,5$), indicando que a seleção para aumentar a quantidade de gordura do leite pode ser uma estratégia eficaz (COSTA; TEIXEIRA, 2007).

Tabela 4. Composição do leite em diferentes raças.

Raça	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Sólidos totais (%)
Ayrshire	4,1	3,6	4,7	13,1
Suiça Parda	4,0	3,6	5,0	13,3
Guernsey	5,0	3,8	4,9	14,4
Holandesa	3,5	3,1	4,9	12,2
Jersey	5,5	3,9	4,9	15,0
Zebu	4,9	3,9	5,1	14,7

Fonte: Jensen (1995).

De acordo com Costa e Teixeira (2007), os fatores não genéticos relacionados à composição do leite são:

- Estádio de lactação – a porcentagem de gordura tende a ser alta durante o primeiro mês, diminuindo a medida que a produção aumenta e aumenta com a diminuição da produção ao final da lactação.
- Intervalo de ordenhas – baixas porcentagens associadas a intervalos longos (porcentagem menor de gordura na ordenha da manhã).
- Ocorrência de mastite – queda na produção de leite e diminuição da porcentagem de gordura em até 0,3%.
- Quanto aos fatores nutricionais, a alimentação tem efeito marcante nos componentes, principalmente na gordura. Os alimentos são responsáveis por 50% das variações de gordura e proteína, porém praticamente não afeta o conteúdo de lactose (TEIXEIRA, 2006).

A determinação da composição centesimal do leite cru é feita pela técnica de infravermelho (IR) com transformada de Fourier (FT). As moléculas de gordura, proteína e lactose absorvem radiação infravermelho em comprimentos de onda distintos, de acordo com os grupos funcionais presentes nas moléculas. Baseado nisso, o software do equipamento calcula a concentração dos componentes usando modelos de calibração multivariada (INTERNATIONAL..., 2013).

Resíduos de antibióticos

Antibióticos são comumente administrados em animais para o tratamento e controle da mastite e de outras infecções. O uso de antibióticos pode ser responsável pela presença de resíduos de antibióticos no leite e pelo aumento de patógenos resistentes. Para evitar que resíduos destas substâncias estejam presentes no leite acima dos limites permitidos pela legislação, o produtor deve utilizar antibióticos somente por recomendação do médico veterinário, marcar os animais em tratamento e respeitar o período de carência estabelecido para cada antibiótico, descartando o leite do animal em tratamento.

A presença de resíduos de antibióticos no leite acarreta grandes prejuízos para a indústria, podendo inibir ou interferir no crescimento dos fermentos usados na produção de queijos e iogurtes, além de riscos para a saúde pública. O consumidor de leite contendo resíduos de antibiótico pode desenvolver alergias, anemias, problemas no fígado e rins, problemas reprodutivos e desenvolver resistência em bactérias causadoras de doenças (DÜRR, 2012).

A IN 62 prevê uma análise mensal do leite para detecção dos antibióticos previstos no Plano Nacional de Controle de Resíduos do MAPA (PNCR-MAPA) e o resultado deve ser negativo ou inferior ao limite estabelecido no PNCR (BRASIL, 1999).

Considerações finais

A IN 62 define a identidade e os requisitos mínimos de qualidade para o leite cru produzido em propriedades rurais. Além disso, recomenda a adoção de boas práticas agropecuárias associadas ao resfriamento adequado do leite para reduzir a contaminação durante a obtenção do leite e mantê-la até a recepção pela indústria.

As informações obtidas da avaliação dos parâmetros na propriedade, indústria e laboratórios são fundamentais para o direcionamento das ações nos rebanhos para melhoria da qualidade da matéria prima e adequação à legislação, além de garantir à população a oferta de produtos lácteos mais seguros e nutritivos.

Referências

- BARTLETT, P.C.; MILLER, G.Y. Mastitis microbiology: what is considered normal? *Agri-Practice*, v. 14, n. 6, p. 12-14, 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 42, de 20 de dezembro de 1999. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em produtos de origem animal – PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel- PCRM, Leite - PCRL e Pescado - PCRP. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p. 213, 22 dez. 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, tipo B, Tipo C e Cru refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p.13, 29 set. 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62 de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 30 dez. 2011.
- 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, Seção 1, p. 8, 14 dez. 2006.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.51, p.129-135, 1999.
- COSTA, C. N.; TEIXEIRA, N. M. Estratégias para melhoria da qualidade do leite com foco na IN51. In: MARTINS, P. do C.; SOUZA, V. F. de; MOREIRA, M. S. de P.; ROSA NETO, C. (Ed.). *Conhecimentos e tecnologias para produção de leite no Estado de Rondônia*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2007. p. 35-53.
- DOHOO, I. R.; LESLIE, K. E. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 10, n. 3, p.225-237, 1991.
- DÜRR, J. W. **Produção de leite conforme Instrução Normativa nº 62**. 4. ed. Brasília: Senar, 2012. 44 p.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.
- FRANK, J. F.; CHRISTEN, G. L.; BULLERMAN, L. B. Tests for groups of microorganisms. In: MARSHALL, R.T. (Ed.) **Standard methods for the examination of dairy products**. 16. ed. Washington: American Public Health Association, 1992. p. 271-286.
- FONSECA, L. F. L. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema de resfriamento. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. Anais... Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998. p. 54-56.

GODKIN M.A.; LESLIE K.E. Culture of bulk tank milk as a mastitis screening test: a brief review. *Canadian Veterinary Journal*, Ottawa, v. 34, n. 10, p. 601-605, 1993.

GOFF, D. Dairy Chemistry and Physics. In: GOFF, D. **The Dairy Science and Technology eBook**. [Guelph: University of Guelph, 2014]. Disponível em: < <https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/dairy-chemistry-and-physics> >. Acesso em: 27 out. 2014.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **ISO 21187/IDF 196**: quantitative determination of bacteriological quality. Bruxelas, Bélgica: ISO, 2004a. 13 p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **ISO 9622/IDF 141**: milk and liquid milk products – Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry. Bruxelas, Bélgica: ISO, 2004b. 14 p.

INTERNATIONAL STANDARDIZATION ORGANIZATION. **ISO 6887-5**: milk and milk products – General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination. Genebra: ISO, 2010.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **ISO 16297/IDF 161**: milk bacterial count – Protocol for the evaluation of alternative methods. Bruxelas, Bélgica: ISO, 2013. 13 p.

KOSKINEN, M. T.; HOLOPAINEN, J.; PYORALA, S.; BREDBACKA, P.; PITKALA, A.; BARKENA, H. W.; BEIXIGA, R.; ROBERSON, J.; SOLVERED, L.; PICCININI, R.; KELTON, D.; LEHMUSTO, H.; NISKALA, S.; SALMIKIVI L. Analytical specificity and sensitivity of a real-time polymerase chain reaction assay for identification of bovine mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*, Lancaster, v. 92, n. 3., p. 952-959, 2008.

JENSEN, R. G. Handbook of milk composition San Diego : Academic Press, 1995. xxiii, 919 p. ill. ;25 cm. Food science and technology international series

LANGE, C. C.; BRITO, J. R. F. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das altas contagens microbianas. In: BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. B. (Ed.). **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite: Epamig/CT/ILCT, 2003. p.119-137.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Current concepts of bovine mastitis**. 3. ed. Madison, WI: NMC, 1987.

OLIVEIRA, L. C.; GOMES, M. F.; VELLOSO, C. R. V. Modernização da Legislação Sanitária Federal sobre Leite e Derivados. In: CASTRO, M. C. D.; PORTUGAL, J. A. B. **Perspectivas a avanços em laticínios**. Juiz de Fora: Epamig, 2000. 278 p.

PAAPE, M. J.; TUCKER, H. A. Somatic cell content variation in fraction-collected milk. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 49, n. 3, p. 265-267, 1966.

PAULA, M. C.; RIBAS, N. P.; MONARDES, H. G.; ARCE, J. E.; ANDRADE, U. V. C. Contagem de células somáticas em amostras de leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa – MG, v. 33, n. 5, p. 1303-1308, 2004.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PEREIRA, M. S. Microrganismos psicotróficos em leite. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 15, n. 88, p. 27-33, set.2001.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Importância e efeito de bactérias psicotróficas sobre a qualidade do leite. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 15, n. 82, p. 13-19, 2001.

SANTOS SILVA, A.; SILVA, A. S.; SANTOS, M. A. J.; SANTOS, M. B.; SILVA, R. A. Avaliação físico-química de leite bovino utilizando pó de repolho roxo (*Brassicaoleracea* var. *Capitata*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 53., 2013, Natal. **Química e sociedade: motores da sustentabilidade: anais**. Natal: ABQ; UFRN, 2013. Disponível em: < <http://www.abq.org.br/cbq/2013/trabalhos/7/2674-13946.html> >. Acesso em: 29 jul. 2014.

SCHUKKEN, Y. H.; WILSON, D. J.; WELCOME, F.; GARRISON-TIKOFSKY, L.; GONZALEZ, R. N. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary research*, Paris, v. 34, n. 5,p.579-596, 2003.

SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C., BRITO, M.A.V.P.; SILVA, M.V.G.B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com o patógeno da mastite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 61, n. 5, p. 1015-1020, 2009.

TEIXEIRA, N. M. A produção de leite com qualidade. In: YAMAGUCHI, L. C. T.; MENDES, L. C.; LIMA, I. B. de; RODRIGUES, C. do C.; COELHO, M. A. de O. Qualidade e eficiência na produção de leite. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2006. p. 11-27.

TRONCO, V. M. Manual para inspeção da qualidade do leite. 4. ed. Santa Maria: UFSM, 1997. 206p.

VALLIN, V. M.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; ANGELA, H. L. D.; SILVA, L. C. C. D. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 30, n. 1, p.181-188, 2009

ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Leite e derivados. In: ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Cap. 27, p. 823-881.

Embrapa

Rondônia