

Denise Araújo de Oliveira

Interferência da Adição de Uréia e Água na Qualidade do Leite Cru Refrigerado

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal

Orientadora: Profa. Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira

Belo Horizonte
UFMG – Escola de Veterinária
2009

048i Oliveira, Denise Araújo de, 1960
Interferência da Adição de Uréia e Água na Qualidade do Leite Cru refrigerado / Denise Araújo de Oliveira. – 2009.
65p. : il.

Orientadora: Mônica M.O.P. Cerqueira
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

1. Leite- Análise – Teses. 2. Leite – composição – Teses. 3. Leite – Qualidade – Teses.
4. Leite – Adulteração e inspeção – Teses. 1. Cerqueira, Mônica Maria Oliveira Pinho.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD - 637

Dedico este trabalho:

Ao meu marido, pelo amor, apoio, incentivo, suporte, compreensão, e companheirismo, que com grande paciência dividiu todos os momentos de ansiedade, sacrifício, esperança e alegria desta fase.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Mônica Maria de Oliveira Pinho Cerqueira, pela orientação, apoio amizade, confiança, compreensão e paciência.

Ao Eduardo Gonçalves Esteves, por tudo.

Aos componentes da banca examinadora, pela valorosa participação neste trabalho.

Ao Médico Veterinário Dr. Ricardo Aurélio Pinto Nascimento, Coordenador Geral do Laboratório Nacional Agropecuário do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em Pedro Leopoldo MG (LANAGRO-MG), pelo apoio e incentivo ao desenvolvimento científico.

Ao Médico Veterinário Dr. Francisco Carlos Lobato, Diretor da Escola de Veterinária-UFMG-MG, pelo apoio e incentivo ao crescimento profissional.

A Médica Veterinária Dra. Zélia Lobato, pela atenção, carinho e participação tão valiosa.

Aos Médicos Veterinários Dr. Ronaldo Sanches (pelas belas fotos do experimento), e a Dra. Denise Kátia dos Santos Aquino, do setor de Alimentação Animal do LANAGRO-MG, por toda atenção, apoio e incentivo.

A Karla Aparecida Esteves Pereira, do setor de Alimentação Animal do LANAGRO-MG, pela ajuda, boa vontade e paciência durante toda a fase experimental deste trabalho.

Á todos os integrantes da equipe do Setor FIQ-POA do LANAGRO-MG (Flávia, Caio, Sinfrônio, e Salomão) juntamente com a equipe do IMA-MG (Cris, Rute, Lucimére e Débora), pela ativa participação, pelo apoio, compreensão, ajuda, paciência, sem as quais este experimento não poderia ser realizado.

Á equipe do Laboratório de Análise de Qualidade do Leite – LabUFMG, pelo apoio e gentileza na realização das análises e fornecimento de material.

Aos professores e funcionários do DTIPOA pela contribuição através de cada exemplo de vida pessoal e profissional.

Aos funcionários da biblioteca, pela preciosa e inestimável colaboração.

A Escola de Veterinária pela calorosa acolhida e a CAPES pelo suporte financeiro.

Aos colegas do mestrado, principalmente o Marcelo Ferraz, pelos conselhos opiniões, abobrinhas, gargalhadas, companhia... mesmo que on-line.

A toda minha família, principalmente a minha sobrinha Júlia pela valiosa participação e ajuda nas horas de aflição.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram com a elaboração deste trabalho.

“Podeis enganar toda a gente durante certo tempo; podeis mesmo enganar algumas pessoas todo o tempo; mas não vos será possível enganar sempre toda a gente.”

Abraham Lincoln

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	8
ANEXOS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
Resumo.....	12
Abstract.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Composição do leite.....	15
2.1.1 Água.....	16
2.1.2 Gordura.....	16
2.1.3 Lactose.....	17
2.1.4 Minerais.....	17
2.1.5 Vitaminas.....	18
2.1.6 Proteínas.....	18
2.2 Qualidade do leite.....	19
2.2.1 Qualidade físico-química do leite cru refrigerado.....	19
2.2.2 Contagem de células somáticas do leite.....	20
2.2.3 Contagem de microrganismos do leite.....	22
2.2.4 Propriedades físico-químicas do leite.....	23
2.2.5 Pagamento por Qualidade.....	26
2.2.6 Fraude.....	29
3. OBJETIVOS.....	34
3.1 Gerais.....	34
3.2 Específicos.....	34
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.1 Coleta, transporte, conservação e preparo das amostras.....	34
4.2 Análises laboratoriais.....	35
4.2.1 Quantificação de componentes (EIVM) e contagem de células somáticas (citometria de fluxo) do leite.....	35
4.2.2 Contagem indireta de microrganismos a 30°C/72 horas pelo método de citometria de fluxo.....	35
4.2.3 Densidade a 15° C e pH.....	36
4.2.4 Depressão do ponto de congelamento.....	36
4.2.5 Estabilidade ao alizarol e determinação da acidez titulável.....	36
4.2.6 Análise de proteína bruta pelo método de referência (Kjeldahl).....	36
4.4 Análise estatística.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
6. CONCLUSÕES.....	47
ANEXOS.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Níveis de concentração de uréia e água adicionadas para condução de experimento para análise da qualidade de leite cru refrigerado	38
Tabela 2. Teor médio de gordura (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infravermelho.....	39
Tabela 3. Teor médio de proteína (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infravermelho	40
Tabela 4. Teor médio de proteína bruta (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado pelo método Kjeldahl.....	41
Tabela 5. Teor médio de nitrogênio (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado pelo método Kjeldahl.....	41
Tabela 6. Teor médio de lactose (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infra-vermelho.....	41
Tabela 7. Teor médio de sólidos totais (ST) (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infra-vermelho.....	42
Tabela 8. Teor médio de extrato seco desengordurado (ESD) (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação às seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infra-vermelho.....	44
Tabela 9. Densidade relativa a 15°C em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação às seis diferentes concentrações de uréia.....	44
Tabela 10. Contagem média de células somáticas (céls./mL) de leite submetido a diferentes concentrações de água e de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infra-vermelho.....	45
Tabela 11. Contagem bacteriana total média (UFC/mL) de leite submetido a diferentes concentrações de água e de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infra-vermelho.....	45

Tabela 12. Valor médio de pH em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia.....45

Tabela 13. Interação do Índice crioscópico (°H) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia.....46

Tabela 14. Interação da acidez entre água e uréia em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia.....47

ANEXOS

Anexo 1. Protocolo do Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA) para a realização de análise de pH.....55

Anexo 2. Protocolo do Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA) para a realização de análise de densidade relativa a 15°C.....56

Anexo 3. Experimento para avaliação de interferência da quantidade de nitrogênio contida no comprimido de bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol), na análise de proteína bruta pelo método kjeldahl.....63

LISTA DE ABREVIATURAS

CLA:	Ácido linoléico conjugado
C:	Graus Celsius
CCS:	Contagem de Células Somáticas
CBT:	Contagem Bacteriana Total
CCP:	Contagem Padrão em Placas
DIPOA:	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem animal
ESD:	Extrato Seco Desengordurado
IC:	Índice Crioscópico
EIMV:	Espectrometria de Absorção no Infravermelho Médio
FIL:	Federação Internacional de Laticínios
FAO:	<i>Food and Agriculture Organization</i>
LMR:	Limite Máximo de Resíduos
MAPA:	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg:	Miligramas
mL:	Mililitro
m/m:	Massa por massa
NNP:	Nitrogênio Não Protéico
NT:	Nitrogênio Total
OMS:	Organização Mundial de Saúde
Kg:	Kilograma
PB:	Proteína Bruta
PV:	Proteína Verdadeira
SNG:	Sólidos Não Gordurosos
ST:	Sólidos Totais
UFC:	Unidades Formadoras de colônia
UAT:	Ultra Alta Temperatura
v/v:	Volume por Volume

Resumo

A qualidade do produto final advém da qualidade do leite cru, baseado nisto algumas indústrias tem adotado o pagamento do leite por critérios de qualidade da matéria-prima fornecida. A proteína é um componente geralmente de maior valorização nos planos de pagamento por qualidade. Este trabalho teve como objetivo avaliar a interferência causada pela fraude de adição de uréia e água ao leite em diferentes concentrações (hipótese de fraude), visando bonificação para teor de proteína. Foram coletadas amostras provenientes do tanque de refrigeração da Fazenda Modelo - UFMG. Foram realizadas sete coletas em diferentes semanas. As amostras foram submetidas às análises de CCS, CBT, gordura, lactose, ST, ESD, proteína por EIVM e proteína bruta por Kjeldahl, acidez titulável, pH, densidade relativa e estabilidade ao álcool alizarol. Os resultados mostraram que houve uma alteração na composição físico-química em todos os tratamentos onde ocorreu adição de água. A adição de uréia provocou um aumento nos teores de proteína, ESD, uma diminuição no teor de gordura, o teor de lactose não foi afetado. Resultados considerados suspeitos pelo EIVM, como proteína acima de 3,4, acidez titulável baixa e o índice crioscópico alto deve ser solicitado a análise pelo método de referência, ou análise para detecção de uréia no leite.

Palavras chave: Qualidade, fraude, bonificação, uréia, água

Abstract

The quality of dairy foods depends on the quality of raw milk. Based on that, some industries have adopted the milk payment following quality criteria, which include, besides other, protein content as one of great interest. This work evaluated the consequences of frauds related to milk adulteration by urea and water added in different concentrations. Seven raw milk samples were collected from milk cooling tank in an experimental farm at the UFMG. They were submitted to the analysis of SCC and TBC and contents of fat, protein, lactose, total solids, and solids non-fat by infra-red spectrometry. Analyses of crude protein (Kjeldahl), titratable acidity, pH, density, and stability to alizarol were also carried out. The results showed that the adulteration of milk altered the physic-chemical composition in all tested treatments in which water was added. Urea adding caused an increase in contents of protein and solids non-fat, while decreased the value of milk fat. The lactose content was not altered. It was also concluded that milk samples suspected of those frauds presenting protein content higher than 3.4%, low titratable acidity and high cryoscopic index should be tested for urea in order to confirm the suspicion.

Key-words: Quality, frauds, payment, urea, water

1 INTRODUÇÃO

O setor lácteo é de grande importância econômica e social para o Brasil e para o mundo. Em 2007, a produção mundial de leite foi de 560.487 mil toneladas. No Brasil, o volume de leite produzido foi de 27 bilhões de litros, sendo que estabelecimentos sob inspeção federal, estadual e municipal captaram 19 bilhões de litros. Ampliar a capacidade de rastreamento da produção nacional de leite é fundamental para o setor leiteiro (Zoccal, 2008).

No Brasil, a qualidade do leite tem sido um dos temas discutidos por especialistas, tendo como foco principal o controle da qualidade da matéria-prima produzida nas propriedades rurais do país.

Segundo Zocche et al. (2002), na avaliação da qualidade do leite, devem-se levar em consideração as características sensoriais, nutricionais, físico-químicas, ausência de agentes patogênicos e contaminantes, e reduzidas contagens de células somáticas e de microrganismos.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), publicou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite, descrito na Instrução Normativa Nº 51, pelo Diário Oficial em 18 de setembro de 2002 (Brasil, 2002). Este regulamento normatiza a produção e estabelece critérios e

parâmetros de identidade e qualidade do leite, desde a ordenha, o resfriamento na propriedade rural e seu transporte a granel, incluindo requisitos físico-químicos e microbiológicos, contagem de células somáticas (CCS) e limites máximos de resíduos (LMR) de antimicrobianos. De acordo com esta normativa, o leite deve ser um líquido branco, opalescente, homogêneo, isento de sabores e odores estranhos, com ausência de neutralizantes da acidez e reconstituintes de densidade (Brasil, 2002).

A IN Nº 51/2002 estabelece alguns parâmetros físico-químicos de qualidade do leite. O leite deve ter o mínimo de 3,0% de gordura, 8,4% ESD e 2,9% de proteína. Apresentar um índice crioscópico máximo de $-0,530^{\circ}\text{H}$ ou $-0,512^{\circ}\text{C}$, densidade a 15°C de 1,028 a 1,034 g/mL e 0,14 a 0,18 gramas de ácido láctico/100mL de leite, para acidez titulável. Deve, ainda, apresentar quantidade máxima de microrganismos de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL em Contagem Padrão em Placas (CCP) até 2008, para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste e até 2010 para as regiões Norte e Nordeste, sendo considerado a partir de 2011, quantidade máxima de microrganismos $1,0 \times 10^5$ UFC/mL para tanques individuais e $3,0 \times 10^5$ UFC/mL para leite em conjunto, para todas as regiões. Outro critério a ser utilizado na avaliação da qualidade do leite é a Contagem de Células Somáticas (CCS), o qual deve apresentar o máximo de $1,0 \times 10^6$ células/mL para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, até 2008 e para o Norte e Nordeste, até 2010. A partir de 2011,

o padrão será de 400.000 células/mL para todas as regiões (Brasil, 2002).

Recentemente, a qualidade nutricional tornou-se muito importante na escolha de alimentos, devido ao grande interesse dos consumidores na relação entre alimentação e saúde humana. A qualidade do produto final advém da qualidade do leite cru que chega às plataformas de recepção das indústrias (Monardes, 1998).

Algumas indústrias leiteiras têm adotado o pagamento do leite baseando-se em critérios de qualidade da matéria-prima fornecida. Este pagamento diferenciado tem como objetivo estimular o produtor rural a melhorar a qualidade do leite produzido em sua propriedade, trazendo assim benefícios para a própria indústria, produtor e consumidor, que estará recebendo um produto de qualidade com segurança alimentar. Este assunto é relevante para o controle e manutenção da qualidade do leite, uma vez que culmina com bonificações aos produtores rurais que fornecerem matéria prima de boa qualidade aos laticínios. Por outro lado, tal pagamento por qualidade pode suscitar a ocorrência de fraudes por produtores inescrupulosos, que visam à bonificação para pagamento em relação ao teor de proteínas, ignorando as conseqüências que elas acarretam para a indústria e para a saúde humana. As fraudes que adulteram a composição original do leite prejudicam a indústria, pois podem diminuir o rendimento industrial e gerar produtos de qualidade inferior, produzindo danos

econômicos à indústria e aos consumidores.

Um estudo realizado por Esteves (2006), para estabelecer a interferência que a adição de uréia pode causar na determinação dos componentes do leite (hipótese de fraude), constatou-se um aumento significativo nos teores de proteína bruta (PB), sólidos totais (ST) e lactose e uma redução no teor de gordura quando estes foram quantificados pelo método de Espectrometria de Absorção no Infravermelho médio (EIMV). O mesmo resultado foi encontrado em um estudo realizado por Roma Júnior et al. (2006).

É de grande importância detectar a presença de produtos fraudados, em desacordo com o rótulo, e de qualidade inferior, seja por razões econômicas ou por razões de saúde pública (Velo, 2003). Em alguns países subdesenvolvidos, as fraudes no leite são muito comuns, e trazem grandes conseqüências para saúde pública. Sempre que ocorre uma modificação da composição original do leite, pode haver diminuição do seu valor nutritivo. Esta perda nutricional tem como conseqüência o comprometimento da saúde de crianças e idosos, tendo em vista que o leite é um alimento essencial para essas idades (Veisseyre, 1988).

O nível de inocuidade dos lácteos representa a responsabilidade da cadeia do leite para com a sociedade e o compromisso assumido com a saúde da população. As contaminações e as fraudes que afetam a qualidade dos produtos

láticos devem ser punidas, os erros corrigidos o mais rápido possível e os acertos devem ser devidamente incentivados. Um leite íntegro ou inócuo é um reflexo da integridade da cadeia de láticos de um país (Monardes, 2004).

Segundo Roma Júnior et al. (2006), para que a qualidade do leite seja assegurada e o setor se desenvolva é indispensável a existência de ferramentas rápidas e precisas de análise do leite em curto espaço de tempo e capazes de identificar a adulteração da composição do leite.

Os resultados analíticos na quantificação dos componentes do leite assumem uma importância cada vez maior não só para os produtores como também para os laticínios, no pagamento por qualidade do leite. Os resultados das análises permitem ao produtor realizar uma seleção genética e melhorar o manejo do seu rebanho, aumentando seus lucros pelo aumento dos sólidos totais. Para a indústria, estes resultados proporcionam um aumento na margem de lucro, uma vez que a matéria-prima de boa qualidade aumenta o rendimento e melhora a qualidade dos seus produtos.

Assim como em outros países, no Brasil, dentre os componentes do leite mais valorizados, merecem destaque a gordura e a proteína no plano de pagamento por qualidade, sendo que a proteína vem adquirindo maior importância (Esteves, 2006).

Devido à importância nutricional, social e econômica do leite, este trabalho teve como objetivos: avaliar

a interferência da adição experimental de uréia no leite cru refrigerado, visando aumentar a bonificação em relação ao teor de proteínas no pagamento por qualidade, a sua influência no teor de proteína total, no índice crioscópico e estabelecer mecanismos de detecção de fraude pela adição de uréia ao leite do tanque mediante estimativa de alteração na qualidade do leite cru refrigerado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Composição do leite

O leite ocupa um lugar de destaque na nutrição humana como fonte de proteína, gordura, carboidrato e outros componentes essenciais. O leite é importante para o adulto sadio, porém, ele é fundamental na dieta de crianças, de adolescentes, de mulheres grávidas e de idosos, tendo em vista a dificuldade que estes grupos encontram em atingir as necessidades de ingestão de determinados nutrientes, inclusive o cálcio (El papel..., 1988).

Após o nascimento, na impossibilidade de aleitamento materno, o leite produzido por animais torna-se o substituto, principalmente o leite de vaca. Nas próximas etapas da vida, o leite deixa de ser o único alimento e passa a contribuir para que o homem tenha uma dieta saudável e diversificada (El papel..., 1988).

A composição do leite é um fator fundamental que determina sua qualidade nutricional e adequação para processamento e consumo humano. Muitos constituintes do leite são sintetizados nas células epiteliais secretoras e alguns têm acesso ao leite diretamente a partir do sangue e do epitélio glandular (Amiot, 1991). O leite contém, de modo geral, 87,4 % de água e 12,6% de sólidos totais, incluindo, aproximadamente, 3,9% de gordura, 3,2% de proteína, 4,6% de lactose e 0,9% de vitaminas e minerais (Harding, 1995), tais como cálcio, fósforo, magnésio e potássio (Bailey, 1997).

O leite apresenta uma variação normal em sua composição, que pode ser influenciada por diversos fatores, tais como: raça do animal, idade, diferença entre os quartos mamários, enfermidades ocasionais do úbere (mastite), alimentação, fase de lactação, clima, individualidade, número e intervalo entre as ordenhas, e adulterações (Walstra et al., 1987).

O monitoramento da composição do leite cru é de grande importância para avaliação da dieta e do metabolismo das vacas em lactação, para a classificação do leite quanto ao seu valor como matéria prima para indústria processadora, e para a verificação da integridade do leite quanto adição ou retirada de componentes (Dürr et. al, 2001).

2.1.1 Água

A água é, quantitativamente, o principal componente do leite e nela, encontram-se dispersos em solução,

constituintes como a lactose, alguns minerais e vitaminas hidrossolúveis (Spreer, 1995).

2.1.2 Gordura

A gordura do leite é formada por lipídeos compostos principalmente por triglicerídeos. Os triglicerídeos são os principais componentes da gordura do leite (98%) e o restante é composto por fosfolipídios, colesterol, diglicérides, ácidos graxos livres e cerebrosídeos, que estão presentes no leite na forma de emulsão (Walstra et al., 1987). E possuem ácidos graxos essenciais como o linoléico, linolênico e o araquidônico (Amiot, 1991).

Entre os constituintes do leite, a gordura é a que mais varia quantitativamente devido à alimentação, raça, e período de lactação dos animais, além da estação do ano e região geográfica (Walstra et al., 1987).

A gordura do leite, além de fonte de energia, de vitaminas lipossolúveis, e de ácidos graxos essenciais, confere palatabilidade ao alimento. Avanços recentes na compreensão dos benefícios de ácidos graxos específicos da gordura do leite são de especial importância devido à percepção pública, geralmente negativa, de que um alimento que contém gordura saturada possa trazer malefícios à saúde humana. O consumidor sempre associou gordura saturada com risco de doença cardíaca. O leite contém aproximadamente 60% de ácidos graxos saturados em sua composição. Embora esses ácidos graxos saturados

presentes possuam variações em suas estruturas, muitas dessas estruturas são neutras e não têm efeito sobre o colesterol plasmático. Muitos ácidos graxos presentes na gordura do leite fornecem efeitos benéficos à saúde humana. Um dos maiores avanços nesta área foi à descoberta dos benefícios que o ácido linoléico conjugado (CLA) pode trazer a saúde humana. O CLA tem, por exemplo, uma atividade anti-carcinogênica, entre outros benefícios (Bauman et al., 2006).

2.1.3 Lactose

A lactose é o principal carboidrato do leite de várias espécies de mamíferos. Trata-se de um dissacarídeo formado por glicose e galactose e é o constituinte sólido predominante e menos variável (Harding, 1998), porém, sua concentração está associada à raça, a individualidade do animal, a processos infecciosos do úbere e do estágio de lactação do animal. De acordo com Harding (1998), a porcentagem de lactose no leite encontra-se em torno de 4,6%.

A lactose proporciona as condições ideais para a fermentação microbiana no intestino humano, propiciando ação de uma microbiota acidificante desejável que inibe o crescimento de bactérias putrefativas e patogênicas. A lactose aumenta a absorção de cálcio, devido à diminuição do pH intestinal, aumentando a solubilidade dos compostos de cálcio e disponibilizando-os para absorção no organismo (El papel...,1988).

A lactose pode ser obtida após os processos de separação das proteínas do soro, sendo um produto largamente utilizado na indústria farmacêutica e de alimentos. Na alimentação humana, a lactose pode ser usada na produção de caramelos, alimentos infantis, xarope de lactose hidrolisada, preparados em pó para bebidas e sopas, produtos de confeitaria, sobremesas congeladas e produtos de panificação. Na indústria farmacêutica, a lactose participa da confecção de comprimidos e pastilhas (Machado et al., 2002).

2.1.4 Minerais

Os minerais desempenham papel muito importante para os seres humanos e outros. O cálcio e o fósforo têm funções estruturais na formação de ossos e dentes. Muitas enzimas necessitam dos minerais para serem ativadas (Walstra et al., 1987).

Os minerais são essenciais para o corpo humano, especialmente na fase de crescimento. O leite possui todos os minerais biologicamente importantes, entre eles, o sódio, o potássio, o magnésio, o flúor, o iodo, o enxofre, o cobre, o zinco e o ferro. (El papel..., 1988). De acordo com Amiot (1991), a contribuição nutritiva mais importante do leite e seus derivados se devem ao seu conteúdo de minerais, principalmente o cálcio.

A hipocalcemia pode se instalar em diversos períodos dos ciclos fisiológicos dos indivíduos. A deficiência de cálcio pode levar à sensibilidade dos ossos e

articulações, pernas arqueadas e joelhos que se chocam, hipertensão e osteoporose (Coelho et al., 2004).

2.1.5 Vitaminas

O organismo não pode sintetizar quantidades suficientes de vitaminas e assim como os aminoácidos e os ácidos graxos essenciais, as vitaminas são provenientes da alimentação. (Amiot, 1991). O leite contém várias vitaminas, e algumas estão presentes apenas como traço. Elas são classificadas em lipossolúveis (A, D, E e K) e em hidrossolúveis (B e C) (Spreer, 1991).

Segundo Amiot (1991), dentro do grupo das vitaminas hidrossolúveis, a riboflavina (vitamina B₂) é a mais importante e abundante em produtos lácteos. Como a maior parte das vitaminas do grupo B, a vitamina B₂ participa da coenzima transportadora de hidrogênio que intervém nas reações de oxidação de aminoácidos e de glicose. O leite contém também quantidades apreciáveis de outras vitaminas hidrossolúveis, como cianocobalamina (vitamina B₁₂), tiamina (vitamina B₁), piridoxina (vitamina B₆) e ácido ascórbico (vitamina C).

2.1.6 Proteínas

As proteínas do leite são classificadas em caseínas, proteínas do soro, proteoses e peptonas. O leite bovino é constituído por vários compostos nitrogenados. De um modo geral, o leite é constituído por 95% de

proteínas e 5% de nitrogênio não-protéico (Walstra et al., 1987).

A caseína do leite é formada por diversas variantes genéticas α (α_{s1} , α_{s2}), β e κ - caseína, as quais estão em solução coloidal. As proteínas séricas estão em solução e são formadas pelas frações: albumina, α -lactoalbumina, β -lactoglobulina, imunoglobulinas, proteoses e peptonas (Walstra et al., 1987).

As proteínas do leite têm elevada qualidade devido à sua quantidade e diversidade de aminoácidos (El papel..., 1988) e em razão de sua composição equilibrada, torna-se fonte dos aminoácidos essenciais: isoleucina, leucina, lisina, metionina, triptofano, fenilalanina e valina (Amiot, 1991). Outra característica das proteínas do leite é a sua habilidade em aumentar o valor biológico de outras proteínas, principalmente das proteínas vegetais. Elas possuem alta digestibilidade devido à capacidade de se dividirem em partículas menores (El papel..., 1988).

As caseínas juntamente com as proteínas do soro satisfazem as necessidades mínimas da proteína de referência. Proteína de referência é aquela capaz de satisfazer as necessidades de aminoácidos essenciais para o ser humano (El papel..., 1988).

O leite fornece também proteínas como: lactoferrina, proteína ligada à vitamina B₁₂ (haptocorrina), proteína ligada ao ácido fólico, lactoperoxidase, α -lactoalbumina e imunoglobulinas, que exercem

importantes atividades fisiológicas no trato gastrointestinal. Estas atividades vão desde o aumento da absorção de nutrientes, inibição de enzimas, atividade enzimática, estimulação de crescimento de microrganismos benéficos, modulação do sistema imune e defesa contra agentes patogênicos (Lönnerdal, 2001).

Estudos mostraram que há uma ação cooperativa entre a caseína e as proteínas do soro, aumentando o valor nutritivo do leite. As proteínas do soro suplementam a caseína transformando as proteínas do leite em uma das mais importantes fontes de nitrogênio na nutrição humana (El papel..., 1988).

2.2 Qualidade do leite

2.2.1 Qualidade físico-química do leite cru refrigerado

Segundo o Regulamento... (1980), artigo 475, “entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias bem alimentadas e descansadas”.

O leite é definido como a secreção láctea normal obtida da glândula mamária de um animal leiteiro. Portanto, sua composição (água, gordura, proteína, lactose, vitaminas e minerais) deve corresponder à própria natureza do produto (Monardes, 2004).

De acordo com Dürr (2004), o leite de boa qualidade é aquele que é

saboroso, seguro, íntegro e nutritivo. Um leite íntegro é aquele que não possui adição de substâncias nem remoção de componentes, não possui deterioração física, química ou microbiológica e que seja livre de patógenos.

A qualidade do leite que chega a indústria é determinada pela qualidade do leite que sai da propriedade de produção. Na indústria, os processadores de leite são incapazes de melhorar a qualidade do leite que eles recebem da propriedade (Philpot, 1998 b).

Como os processos industriais não conseguem melhorar a qualidade do leite, a única maneira de garantir um produto com qualidade é por meio do controle da produção, conservação e transporte. O fornecimento de leite de alta qualidade é um compromisso de toda a cadeia produtiva com o consumidor final. O leite e seus derivados têm a qualidade regulamentada pelos órgãos oficiais responsáveis para garantir segurança alimentar da população (Dürr, 2004).

A qualidade do leite é determinada pela sua composição físico-química e seu nível higiênico-sanitário, os quais definem o seu potencial nutricional, industrial e de segurança alimentar. A composição do leite e sua qualidade têm papel fundamental para as indústrias, pois a produção de derivados depende da quantidade dos seus constituintes presentes no leite cru (Ceballo, 1999).

Segundo Picinin (2003), para que ocorra aceitação do leite e até mesmo o seu pagamento por qualidade pelos

laticínios, torna-se necessário o seu monitoramento visando garantir a recepção de matéria-prima de boa qualidade e de bom rendimento industrial. Esta monitorização é realizada de acordo com parâmetros seguros que determinam a sua composição, fundamentados na porcentagem de gordura e proteína bem como na sua qualidade higiênica.

A qualidade do leite é avaliada por meio de testes e parâmetros físico-químicos, higiênicos e de composição. Os testes empregados para avaliar a qualidade do leite constituem normas regulamentares em todos os países, ocorrendo uma pequena variação entre os parâmetros e testes avaliados. As características físico-químicas, sabor, odor, baixa contagem bacteriana e de células somáticas, ausência de conservantes químicos e de resíduos de antimicrobianos e outras drogas, são geralmente os mais adotados (Brito et. al, [200-]).

Os principais componentes do leite são a gordura e as proteínas por estarem relacionados com maior rendimento industrial do leite, sendo utilizados como os critérios para determinação do valor do leite em muitos países (Dürr, 2004).

A composição do leite em termos de gordura e proteína depende, basicamente, do potencial genético das vacas para a produção desses sólidos e do tipo e quantidade de alimento que o animal ingere. Portanto, estes dois componentes podem ser alterados pelo manejo nutricional ou pela exploração da

variação genética existente entre os animais (Dürr, 2004).

Segundo Borsari (2001), a indústria de laticínios no País é bastante expressiva, possuindo elevada tecnologia que pode ser comprovada pela enorme variedade de produtos oferecidos ao consumidor. Com a demanda crescente da população por estes produtos, os laticínios sentiram a necessidade em reduzir perdas causadas pela má qualidade da matéria-prima e, acima de tudo, em elevar o padrão de qualidade destes produtos, para atender um público cada vez mais exigente. Deste modo, as indústrias de grande porte estabeleceram a remuneração para o produtor de acordo com a qualidade da matéria-prima de sua propriedade.

2.2.2 Contagem de células somáticas do leite

A qualidade do leite *in natura* é influenciada por muitas variáveis, entre as quais se destacam fatores zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético dos rebanhos e fatores relacionados à obtenção e armazenagem do leite. Uma das causas que exerce influência extremamente prejudicial sobre a composição e as características físico-químicas do leite é a mastite, acompanhada por um aumento na contagem de células somáticas (CCS) no leite. Trata-se de uma enfermidade do rebanho leiteiro, capaz de provocar consideráveis prejuízos, por diminuição da capacidade secretora do úbere causando uma redução da produção de leite. Com o aumento da

CCS, a composição do leite, a atividade enzimática, o tempo de coagulação, a produtividade e a qualidade dos derivados lácteos, são influenciados negativamente (Kitchen, 1981).

As células somáticas são compostas pelas células responsáveis pela defesa do organismo (glóbulos brancos) e pelas células de descamação do epitélio secretor da glândula mamária. O aumento da CCS do leite é um dos principais indicativos de mastite, pois quando ocorre uma infecção da glândula mamária, o organismo reage enviando ao local, células de defesa com o intuito de combater a infecção (Laranja, 1998).

Uma alta concentração de células somáticas no leite do tanque reflete uma alta prevalência de mastite no rebanho. Além dessa relação direta com mastite, a CCS está diretamente relacionada com a qualidade do leite (Laranja, 1998).

Vários fatores fisiológicos e ambientais podem influenciar a CCS do leite. Dentre eles, destacam-se: estágio da lactação, idade da vaca, número de lactações, estação do ano, práticas de manejo, qualidade e eficiência da ordenha e o intervalo entre as ordenhas, mas o principal é a infecção da glândula mamária (Harding, 1995).

De acordo com Harding (1995), CCS é um parâmetro diretamente relacionado com a saúde da glândula mamária do rebanho e está associada com a qualidade e o rendimento industrial dos produtos.

Há um considerável número de pesquisas indicando que a produção de leite diminui na medida em que a CCS aumenta. Propriedades leiteiras com CCS do leite de tanque refrigerador de 363.000, 631.000 e 1.096.000 células/mL, perderam 570, 760, e 950 kg de leite respectivamente, por vaca por lactação. Esses dados confirmam que a mastite continua ser a enfermidade mais dispendiosa de gado leiteiro dos principais produtores do País (Philpot, 1998a).

Em relação às proteínas, ocorre uma redução naquelas sintetizadas na glândula mamária (α e β caseína, α -lactoalbumina e β -lactoglobulina) e aumento das proteínas de origem sanguínea (albumina sérica e imunoglobulinas), em virtude do aumento de permeabilidade vascular secundário ao processo inflamatório. A proteína total do leite tem pouca variação, mas a concentração de cada tipo de proteína varia acentuadamente (Kitchen, 1981).

Os dados da literatura são contraditórios em relação à variação dos teores de gordura no leite com o aumento na CCS. Normalmente, existe tendência de queda na concentração de gordura à medida que aumenta a CCS. Quando a produção de leite diminui, a porcentagem de gordura aumenta em animais com altas CCS em função do efeito da concentração. A mastite, acompanhada de altas CCS, está associada à diminuição da concentração de lactose no leite. Os principais mecanismos pelos quais ocorrem alterações nos níveis dos componentes do leite são a lesão das

células epiteliais produtoras de leite e o aumento da permeabilidade vascular, que determina a maior passagem de substâncias do sangue para o leite, tais como sódio, cloro imunoglobulinas e outras proteínas séricas (Kitchen, 1981).

De acordo com Kitchen (1981), a mastite provoca alterações significativas na composição do leite (diminuição de teores de caseína, cálcio, fósforo, lactose e gordura), reduzindo o rendimento industrial, o tempo de vida de prateleira e o sabor dos produtos lácteos.

Segundo Philpot (1998a), devido à importância da CCS, todos os países de pecuária leiteira desenvolvida apresentam um limite legal de tolerância para a CCS. Nos Estados Unidos da América, esse limite permitido é de 750.000 células/mL, na União Européia, esse valor é de 400.000 células/mL e, no Canadá, é de 500.000 células/mL. O autor enfatiza ainda que o objetivo do produtor em qualquer país do mundo deveria ser o de manter as células somáticas tão baixas quanto possíveis. Na Suíça, a média geométrica nacional de CCS é de aproximadamente 100.000 células/mL.

2.2.3 Contagem de microrganismos do leite

O leite, quando sai do úbere de um animal sadio, é relativamente livre de microrganismos. Porém, é inevitável a contaminação proveniente do meio ambiente da ordenha, dos diversos utensílios empregados na ordenha, e

do ordenhador durante a ordenha manual. Um leite produzido em boas condições de higiene deve ter uma contagem bacteriana abaixo de 10.000 bactérias/mL. Quando a contagem bacteriana for superior a três milhões de bactérias/mL, isto pode significar uma degradação na gordura, proteína e lactose causando uma perda de sabor, bem como capacidade de armazenagem. A qualidade microbiológica do leite deve servir para o produtor como ponto de referência e de controle da qualidade da matéria-prima produzida em sua propriedade (Harding, 1995).

A qualidade da matéria-prima começa pelo atestado sanitário do rebanho e depende das condições de saúde do ordenhador, das condições de higiene do ambiente de ordenha, do tipo de equipamento empregado e suas condições desde a colheita até o transporte e da entrega do leite à indústria, bem como do beneficiamento industrial. A higiene em todas as etapas de produção constitui o único recurso eficaz na fonte de produção que garante prolongar o período de conservação, tendo em vista que não se pode transformar uma matéria-prima de qualidade ruim em boa. A manutenção de uma boa qualidade depende das condições de armazenamento do leite na propriedade e das condições de transporte até a indústria (Cerqueira et al., 1999).

A qualidade industrial está diretamente relacionada com a carga microbiana da matéria-prima. Estudos mostraram que tanto as

características sensoriais dos produtos finais bem como o tempo e prateleira e o rendimento industrial são afetados significativamente pela baixa qualidade microbiológica do leite. As bactérias fermentadoras de lactose levam a um aumento da acidez do leite comprometendo o processamento industrial de produtos tais como leite Ultra Alta Temperatura (UAT) e de queijos. Os microrganismos psicrotróficos podem produzir enzimas, que ao degradarem as frações lipídicas e protéicas levam a sabores indesejáveis, menor tempo de prateleira e rendimento industrial do leite e de seus derivados (Picinin, 2003).

A Instrução Normativa brasileira estabeleceu o máximo de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL até 2008, para as regiões sul, Sudeste e Centro-Oeste e até 2010 para as regiões Norte e Nordeste. A partir de 2011, o padrão passa a ter o limite máximo de $1,0 \times 10^5$ UFC/mL para tanques individuais e $3,0 \times 10^5$ UFC/mL para leite de tanque em conjunto, para todas as regiões do Brasil (Brasil, 2002).

2.2.4 Propriedades físico-químicas do leite

2.2.4.1 Índice crioscópico

O índice crioscópico é a medida do ponto de congelamento do leite ou da depressão do ponto de congelamento do leite em relação ao da água. Como essa é uma das características físicas mais constantes do leite, é tal propriedade é usada para detectar adulteração com água. Quando se

adiciona água ao leite, o ponto de congelamento aumenta em direção ao ponto de congelamento da água (0°C) (Brito et al. [200-]).

O índice crioscópico normal, de acordo como o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) é de no mínimo $-0,550^\circ\text{C}$. Para a IN N° 51/2002, é de no máximo $-0,530^\circ\text{H}$ (equivalente a $-0,512^\circ\text{C}$) (Brasil, 2002). A adição de água ao leite causa alteração do ponto crioscópico do leite, ocorrendo aumento da temperatura de congelamento, a qual tende a se aproximar da temperatura de congelamento da água (0°C) (Santos e Fonseca, 2000).

A temperatura de congelamento do leite é mais baixa do que a da água devido ao efeito das substâncias dissolvidas no leite, principalmente a lactose, cloretos, citratos, fosfatos, ácido láctico (Mitchell, 1989).

O ponto de congelamento 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 constituintes do leite. Entre esses, citam-se: estação do ano, idade, estado de saúde e raça dos animais, acesso destes à água, alimentação, temperatura ambiente, hora da ordenha (ex. manhã ou ao entardecer). No entanto, as diferenças não chegam a causar alterações no ponto de congelamento do leite (Brito et al. [200-]).

Porém, um estudo realizado por Santos (2008) para estimar os efeitos isolados e combinados da raça e dos fatores ambientais sobre a estabilidade do ponto de congelamento do leite de vacas, verificou que a maior parte das amostras que apresentaram ponto de congelamento mais alto provinha da raça de animais mais produtivos e cujo leite possuía os menores teores de proteína. Esta variação recai para o fato de existirem diferenças raciais entre os teores dos constituintes do leite e, ainda, pela variação de um animal para outro.

2.2.4.2 Acidez titulável e pH

O leite recém ordenhado é ligeiramente ácido, apresenta um pH entre 6,6 e 6,8. Esta acidez é conhecida como acidez natural, e tem origem nos seus componentes normais, tais como: citratos, dióxido de carbono, caseínas e fosfatos (Silva et al., 1997; Santos e Fonseca, 2000).

A elevação da acidez é determinada pela hidrólise da lactose por enzimas de origem microbiana com formação de ácido láctico, sendo denominada de acidez desenvolvida do leite (Silva et al., 1997). Quando o leite é obtido sob condições precárias de higiene e refrigeração deficiente, ocorre o aumento de ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, produzido por microrganismos fermentadores da lactose que juntamente com acidez natural do leite, formam a acidez real do leite (Santos e Fonseca, 2000).

A acidez do leite pode ser medida pelo pH (6,6 e 6,8) ou pelo método da acidez titulável expressa em °D (graus Dornic). Segundo a IN N° 51/2002, a acidez titulável do leite deve variar entre 0,14 e 0,18 g de ácido láctico/100 mL (Brasil, 2002).

De acordo com Peres (2001), a implicação usual de altos valores de acidez no leite é que este contém elevados níveis de ácido láctico. A causa mais provável é a conversão do açúcar do leite, a lactose, em ácido láctico por bactérias. Sendo assim, alta acidez indica alta concentração de ácido láctico que, por sua vez indica alta contagem bacteriana. Porém, a acidez não mede a contagem bacteriana do leite.

2.2.4.3 Estabilidade ao alizarol

De acordo com Ponce e Hernández (2001), a estabilidade frente ao álcool é a prova mais simples na recepção do leite em uma plataforma de laticínio. O teste é realizado com a mistura em partes iguais de leite e de álcool 68-75%. Caso ocorra coagulação, a amostra é rejeitada por não ser apta ao tratamento térmico e o leite é considerado como sem estabilidade térmica.

De acordo com a metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura, Abastecimento e Pecuária (MAPA), a prova do álcool pode ser usada como método rápido para estimar a estabilidade das proteínas do leite durante o processamento térmico, uma vez que um leite produzido com baixa qualidade higiênica pode apresentar

redução do pH pela fermentação da lactose em ácido láctico, resultando, em uma maior instabilidade da proteína. Nesta prova, o álcool atua como um desidratante e simula as condições de aquecimento. Os resultados podem ser alterados pela interferência de substâncias presentes no leite que alteram o equilíbrio cálcio-magnésio e citrato-fosfóro do leite (Santos e Fonseca, 2000).

Segundo Silva et al. (1997), o teste tem como objetivo estimar a estabilidade do leite por meio de uma reação com uma solução alcoólica. A graduação alcoólica empregada é proporcional ao rigor requerido no teste. A ocorrência de coagulação ocorre pela elevação da acidez ou por desequilíbrio salino, quando se promove a desestabilização das micelas de caseína pelo álcool.

Atualmente, em diversos países, como por exemplo, os da União Européia, EUA e Canadá, a necessidade destes testes declinou devido à rápida melhora na qualidade microbiológica do leite e quando começaram a reconhecer problemas na estabilidade do leite associados à estação do ano, dieta e estágio da lactação. O teste do álcool revelou-se um indicador não confiável de problemas no leite, particularmente, em razão de sua estabilidade durante o processamento de produtos evaporados ou condensados (Brito et al. [200-]). De acordo com IN N° 51/2002, o leite, diante o teste do álcool/alizarol, deve apresentar estabilidade na concentração mínima de 72% volume/volume (Brasil, 2002).

Diversas cooperativas e laticínios freqüentemente recebem leite que não apresentam estabilidade diante a prova do álcool a 72%, mesmo que ele apresente CBT, CCS, pH e sólidos totais dentro dos padrões normais. Neste caso, o leite poderá se coagular, ocorrendo problemas durante o processamento do leite UAT. Alguns especialistas consideram que o teste do álcool é fundamental para tomadas de decisão durante o recebimento do leite na plataforma da indústria, principalmente quando esta produz alguns tipos de derivados lácteos como o leite UAT. No entanto, deve-se levar em consideração que como em qualquer método, podem ocorrer resultados falso-positivos, sendo necessário o uso de outros métodos para a confirmação (Santos e Fonseca, 2000).

2.2.3.4 Densidade

A densidade absoluta é o peso específico do leite determinado pela concentração de elementos em solução e suspensão, mais a porcentagem de gordura. A densidade final do leite depende do balanço da densidade da água mais a densidade da gordura, que tem valor inferior ao da água, somado à densidade dos sólidos não gordurosos. A média da densidade do leite em amostras individuais a 15°C é de 1,032 g/mL. O teste da densidade pode ser útil na detecção de adulteração do leite, uma vez que a adição de água diminui os valores da densidade, enquanto o desnatado aumenta a densidade, e ainda fornece informações para a determinação do extrato seco total

(EST), juntamente com a porcentagem de gordura (Amiot, 1991).

A densidade abaixo do padrão normal fornece uma indicação de adição de água no leite e, eventualmente, poderá indicar também problemas de saúde da vaca, ou mesmo problemas nutricionais. Contudo, a densidade depende também do conteúdo de gordura e de sólidos não-gordurosos, em razão da gordura do leite ter densidade menor que a da água, enquanto que os sólidos não-gordurosos têm densidade maior. O teste indicará claramente alteração da densidade somente quando mais que 5 a 10% de água forem adicionadas ao leite. Densidade acima do normal pode indicar que houve desnatamento ou, ainda, que qualquer outro soluto foi adicionado (Brito et al. [200-]).

De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), a densidade do leite a 15°C deve estar entre 1.028 e 1.033 g/mL. Para a IN N° 51/2002, os limites mínimo e máximo da densidade relativa do leite a 15°C são 1,028 e 1,034 g/mL (Brasil, 2002).

2.2.5 Pagamento por Qualidade

O pagamento pela qualidade é um instrumento empregado por algumas indústrias para incentivar o produtor a investir em cuidados que resultem em melhor qualidade do leite cru. Além do pagamento de bonificação por qualidade, as indústrias também podem incluir penalizações para baixa qualidade da matéria-prima.

Geralmente, estes incentivos variam de uma indústria para outra, mas a contagem de células somáticas, a contagem total de microrganismos, a ausência de resíduos de antimicrobianos e de outros inibidores e ausência de fraude por adição de água são sempre contemplados (Brito et al., [200-]).

De acordo com Ibarra (2004), a maioria dos países iniciou o pagamento do leite por composição, pelo seu teor de gordura. Isso ocorreu porque a determinação do teor de gordura era relativamente fácil em razão do uso do butirômetro e porque a manteiga, naquela época, era um dos principais derivados lácteos fabricados em todo o mundo.

No entanto, nos últimos anos, em função da mudança significativa nos hábitos alimentares da sociedade moderna, que passou a rejeitar alimentos com alto teor de gordura, especialmente gordura saturada de origem animal, o pagamento de bonificação pelo teor de gordura apresentou declínio. A estagnação no consumo de manteiga e no desenvolvimento de tecnologia na indústria alimentícia para a produção de produtos com baixos teores de lipídeos e pouco valor calórico levou a uma desvalorização da gordura do leite, ao mesmo tempo em que desencadeou uma valorização do teor de proteína (Picinin, 2003).

Segundo Monardes (2004), o leite era considerado de qualidade elevada somente em função do seu conteúdo de gordura. Mas atualmente, devido à pressão dos nutricionistas, dos consumidores, dos fabricantes de

queijos, a proteína tornou-se o sólido do leite com maior valor econômico. O teor de proteína e a qualidade do leite são importantes principalmente para fabricantes de queijos, por serem fatores determinantes da qualidade e do rendimento do produto (Teixeira et al., 2003). Nos sistemas de pagamento diferenciado do leite no mundo todo, a valorização da proteína pode ser atribuída ao aumento do consumo de queijos, pois o teor deste constituinte apresenta maior correlação com rendimento industrial de queijos (Tronco, 1997).

No Uruguai, o pagamento era feito somente pelo volume de leite produzido. Em 1954, iniciou-se o pagamento pelo teor de gordura. Atualmente, mais de 50% do leite produzido no país é destinado à exportação, sendo os principais, o leite em pó e o queijo. Consequentemente, o sistema de pagamento pela composição veio a mudar, e a proteína foi incluída neste sistema. A partir de 1997, a proteína passou a ter maior valor em relação à gordura, na ordem de 70:30. O pagamento pela qualidade higiênica também veio a ser incorporado ao sistema de forma a diferenciar os produtores que produziam um leite excelente daqueles que produziam um leite de qualidade aceitável (Ibarra, 2004).

Segundo Turnbull (2002), para se produzir com melhor qualidade, a indústria deve receber a matéria prima e os melhores ingredientes para a produção. Na Nova Zelândia, por exemplo, a primeira iniciativa foi cuidar da qualidade dos pastos das fazendas leiteiras. As vacas leiteiras e

seus descendentes são registrados, bem como sua localização, gerando melhoria na produção de acordo com os cruzamentos realizados. Todo este controle é feito para que a qualidade do leite cru seja cada vez melhor. Normalmente, nestas fazendas, a equipe de trabalho é composta pelos proprietários que são responsáveis pela ordenha e que são treinados de acordo os padrões da legislação.

A Nova Zelândia é o país que produz maior volume de leite por habitante do mundo, além de ser líder na área de indústria da maioria dos laticínios. O pagamento por qualidade de componentes baseia-se em teores diferenciados em teores de gordura e proteína. Dependendo das condições higiênicas, não se bonifica por qualidade, mas, há penalizações (Ibarra, 2004).

A França realiza pagamento por qualidade considerando os teores de gordura e de proteína bruta desde 1969 (passando para proteína verdadeira em 1974), com uma valorização da gordura em relação proteína na ordem de 74:26. Posteriormente, houve uma inversão de valores numa proporção de 34:66 em favor da proteína (Grappin, 1992).

Países pioneiros no setor leiteiro, tais como a Dinamarca e Holanda, pagam por qualidade com base no teor de proteína há 30 anos, sendo uma tendência natural para os países preponderantemente produtores de leite em pó, queijos, caseína ou caseinatos adotarem este comportamento (Ibarra, 2004).

De acordo com Walstra (1992), na Holanda, o pagamento pela qualidade de proteína iniciou-se em 1955, em razão das cooperativas perceberem que leites com diferentes percentuais de proteína apresentavam maiores rendimentos do que leites com o mesmo percentual em gordura. Nos países onde o pagamento pelo teor protéico foi adotado, o pagamento pelo teor de gordura continua ainda sendo feito (Ibarra, 2004).

No Brasil, o critério de teor de proteína ainda é incipiente nos sistemas de pagamento por qualidade. Em uma pesquisa realizada por Fonseca em 1991, observou-se que, em 93% das empresas estudadas, apenas aproximadamente 6% utilizavam o parâmetro teor de proteína, enquanto que 30% usavam o teor de gordura para pagamento por qualidade. Do total, 8% utilizavam o critério extrato seco desengordurado (ESD) e apenas uma indústria das 93 estudadas utilizava o teor extrato sólido total (EST). Nenhuma destas indústrias utilizava o teor de lactose como base em pagamento por qualidade. Vale ressaltar que tais fatos são surpreendentes uma vez que o teor de sólidos no leite (sólidos totais ou sólidos não gordurosos) apresenta alta correlação com o rendimento industrial para a produção de derivados lácteos, como o queijo e o leite em pó, devendo então ser mais valorizados pela indústria (Fonseca, 2001).

De acordo com Carvalho (2008a), a ênfase de alguns programas no Brasil está direcionada para a parte higiênico-sanitária e não tanto para a melhoria do teor de sólidos, variável

importante para quem deseja competir nos mercados externos.

Uma das maiores captadoras de leite do país e pioneiras no programa de pagamento por qualidade no Brasil paga bonificações e aplica penalizações com base em contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS). O bônus pago por esta empresa para leite com CCS menor que 240 mil células/mL é de R\$0,012/litro. Além disso, o leite produzido com qualidade reflete benefícios indiretos para o produtor como redução das perdas de produção, melhorias na saúde animal, redução nos custos com medicamentos, descarte, etc. No caso da contagem bacteriana total, o produtor que apresentar leite com CBT menor que 40 mil UFC/mL recebe um bônus de R\$ 0,024/litro.

Por outro lado, este programa não estimula, completamente, o produtor a melhorar a composição do leite. Para exemplificar, se o produtor elevasse o teor de gordura média do leite de 3,58% para 3,98%, haveria um acréscimo de aproximadamente R\$ 0,0095/litro. No caso da proteína, um aumento de 3,19% para 3,40% levaria a uma melhor remuneração do leite, ou seja, 0,0248/litro (Carvalho, 2008a).

A qualidade do leite é avaliada por meio de testes e existem parâmetros definidos para detectar problemas com as práticas de produção e para determinar as características físico-químicas, higiênicas e de composição do leite (Figueiredo e Porto, 2002). Os programas de pagamento do leite das principais empresas foram elaborados em 2005, quando os

custos de produção, especialmente a suplementação, eram menores do que em 2007. Em função disso, o estímulo para a melhoria nos teores de gordura e proteína permaneceu em patamares bem inferiores a outros países como, por exemplo, a Nova Zelândia, que apresentou uma melhoria de 20% nos valores dos teores de gordura e proteína em relação ao Brasil. Desta forma, a tendência de elevação nos custos de produção deve ser revisada periodicamente (Carvalho, 2008a).

De acordo com Monardes (1998), no pagamento por qualidade, os principais elementos que definem a qualidade do leite são os componentes (gordura, proteína, e lactose), a contagem de células somáticas, a contagem bacteriana, a ausência de adulteração por água, resíduos microbianos, as qualidades sensoriais e a temperatura.

Além do pagamento pela composição, a qualidade higiênica do leite também deve ser considerada para determinar o preço que o produtor recebe. As exigências são cada vez maiores, pois se tem tecnologia disponível para produzir leite com qualidade (Ibarra, 2004).

Das 230 indústrias que enviavam amostras de leite para o laboratório da ESALQ/USP, apenas 11 tinham programa de pagamento por qualidade do leite, representando apenas 5% das indústrias. O volume de leite no Brasil, ainda é o principal diferencial de preço, em especial quando ocorre escassez de leite no mercado. O pagamento por qualidade é a principal ferramenta para

melhoria da matéria-prima. Nas empresas que implantaram pagamento por qualidade, verificou-se uma média de CBT de 9×10^4 UFC/mL. Nas empresas que não possuíam programas diferenciados de pagamento por qualidade, o valor médio da CBT foi de 9×10^5 UFC/mL, o que vem a corroborar que diante de políticas de estímulo/penalização, a tendência é a melhoria da qualidade (Carvalho 2008a).

2.2.6 Fraude

No Brasil, o Regulamento... (1980), no seu artigo 543, considera fraudado, adulterado ou falsificado, o leite que for adicionado de água; submetido à subtração de qualquer dos seus componentes, exclusive gordura nos tipos “C” e “magro”; for adicionado de substâncias conservadoras ou de quaisquer elementos estranhos à sua composição; for de um tipo e se apresentar rotulado como de outro de categoria superior; estiver cru e for vendido como pasteurizado; for exposto ao consumo sem as devidas garantias de inviolabilidade.

Na contramão de um leite e seus derivados de alta qualidade, existe um permanente risco do leite servir como um veículo de microrganismos patogênicos, sujidades, matérias estranhas, adulteração por acréscimo de misturas com baixo valor nutricional (Borsari, 2001).

A fraude prejudica as indústrias, pois os produtos lácteos apresentam um menor rendimento em seu processamento e uma qualidade

nutricional inferior. A autenticidade dos alimentos tornou-se um objetivo a ser alcançado. É de grande importância detectar a presença de produtos fraudados em desacordo com o rótulo e de qualidade inferior, seja por razões econômicas, ou por razões de saúde pública (Veloso, 2003).

Em alguns países subdesenvolvidos, as fraudes no leite são muito comuns e trazem grandes consequências para saúde pública. Sempre que ocorre uma modificação da composição original do leite, muitas vezes pode ocorrer uma diminuição do seu valor nutritivo. Esta perda nutricional tem como consequência o comprometimento da saúde de crianças e idosos (Veisseyre, 1988).

De acordo com Carvalho (2008b), o episódio de contaminação do leite com a substância melamina na China afetou mais de 50 mil pessoas e quatro mortes de crianças foram confirmadas. Pelo que foi divulgado na imprensa, o leite foi adulterado com água e teve a adição da substância (que tem uréia em sua constituição) para elevar artificialmente o teor de nitrogênio, aumentando o teor de proteína. O leite processado foi, então, vendido para a indústria que o transformou em diversos tipos de produtos alimentícios como leite em pó, chocolates, barra de cereais, biscoitos, etc. O maior problema, no entanto, foi a contaminação das fórmulas infantis destinadas a bebês. Nos seres humanos, a função mais importante do rim está na sua capacidade de excreção e regulação da água corporal, de minerais e de

compostos orgânicos. Dentre os produtos de excreção renal estão os produtos finais do metabolismo das proteínas e aminoácidos (uréia, creatinina, ácido úrico). A perda da capacidade excretória renal resulta em um acúmulo de substâncias tóxicas no organismo provocando perda progressiva da capacidade excretória renal. Dentre estas substâncias, destaca-se a uréia, que provoca a síndrome urêmica com danos no sistema nervoso, gastrointestinal, endócrino, hematológico, cardiovascular, respiratório, imunológico, urológico, musculoesquelético e doenças na pele (Cuppari et al., 2002).

2.2.6.1 Adição de água

A qualidade de composição do leite nem sempre é a melhor maneira de se averiguar a sua integridade, tendo em vista que sua composição varia de acordo com cada animal. A adição de água ao leite é uma fraude que ocorre no mundo inteiro, alterando sua qualidade e aceitação pelo consumidor. Esta prática está relacionada com a região e o nível de conscientização do produtor rural (Fonseca et al., 1995).

A adição de água ao leite pode resultar ainda da presença acidental por falhas na drenagem dos equipamentos após os processos de limpeza e higienização. A água permanece como resíduo em ordenhadeiras, tanques de resfriamento e utensílios em geral. Uma checagem bem feita em equipamentos e utensílios, principalmente das instalações antes

da ordenha serve como prevenção deste problema (Fonseca, et al., 1995).

A adição de água ao leite não é permitida por ser considerada uma adulteração. Ela é grave, pois não só diminui o valor nutritivo do leite, como também pode servir de veículo carreador de microorganismos psicrotróficos que reduzem a qualidade e vida de prateleira dos produtos lácteos (Philpot, 1998 a).

De acordo com Veisseyre (1998), a adição de água ao leite é a fraude mais freqüente, e é também grave, pois, além de diminuir o valor nutritivo do leite, pode ainda ser fonte de contaminações, inclusive por microorganismos patógenos. Picinin (2003), ao determinar a qualidade do leite cru refrigerado, e estocado em tanques de expansão por 48 horas e da água utilizada para limpeza das instalações e equipamentos em propriedades rurais localizadas próximas à Grande Belo Horizonte (MG), constatou que as amostras de leite com maiores contagens microbianas eram provenientes também de propriedades com água de baixa qualidade microbiológica. Conclui-se que a qualidade da água influencia direta ou indiretamente a qualidade do leite.

A aguagem diminui o teor dos componentes e, conseqüentemente, o valor nutritivo (Veisseyre, 1988), e calórico do leite. As caseínas têm um valor biológico mais baixo que as proteínas do soro, devido a uma ligeira deficiência de metionina e cisteína. As proteínas do soro do leite têm um ligeiro excesso destes aminoácidos, de forma que quando, a caseína e o soro se misturam no leite,

complementam-se. O valor biológico da proteína láctea depende das quantidades relativas das proteínas que contém (Porter, 1981). A adição de água provoca o desequilíbrio não somente nesta relação caseína/soro, como também em todos os componentes do leite.

Em estudo realizado na Índia sobre a qualidade do leite vendido na cidade Parbhani, amostras de leite foram coletadas cinco locais diferentes. Todas as amostras estavam fraudadas pela adição de água e, em algumas, a aguagem chegava a quase 50%. Os percentuais de gordura, extrato seco não gorduroso (SNG) e a densidade relativa estavam em desacordo com a legislação local, inclusive em amostras do leite que era distribuído pelo governo. As amostras também foram positivas para adição de carbonatos e bicarbonatos, e em duas amostras de diferentes fontes, constatou-se adição de açúcar em mais de 50% de seu conteúdo (Kerpude, et al., 1987).

2.2.6.2 Adição de uréia

Segundo Pires (2000), os casos de fraude estão relacionados com o volume ou prolongamento da vida útil do leite. Estas fraudes ainda continuam a ser praticadas como se pode observar pelo escândalo ocorrido em outubro de 2007, no qual a população passou a ter conhecimento pela mídia de que a adição de hidróxido de sódio e de peróxido de hidrogênio visava mascarar a má qualidade do leite (Mikpoint, 2008). Porém, além dos fatores apresentados, outros casos

começam a ganhar importância, como adulteração do teor de proteína pela adição da uréia ao leite (Esteves, 2006; Roma Júnior et al., 2007).

A alimentação de um rebanho bovino representa 75 a 85% do custo da produção leiteira. Por isso, deve se usar uma alimentação adequada e de qualidade, principalmente quanto aos níveis de proteína, pois este nutriente é o mais dispendioso componente da alimentação de vacas leiteiras, além de ser o mais caro (Grande e Santos, [200-b]).

Para se elevar o teor de proteína do leite é necessário investir em concentrados e na melhoria genética do rebanho leiteiro. O aumento do aporte de energia eleva não só o teor de proteínas, mas também a produção de leite (Carvalho, 2008b). A suplementação protéica em rebanhos mantidos a pasto é muito comum, principalmente durante o período de inverno, mas os alimentos ricos em proteína vegetal, tais como farelo de soja, algodão e glúten de milho são muito caros (Grande e Santos, [200-b]). Em 2007, a saca de milho sofreu um reajuste de 58,5% e o farelo de soja teve um aumento de 31% em relação a 2005, quando se iniciou o pagamento por qualidade (Carvalho, 2008a). Desta forma, a utilização de uréia como fonte de nitrogênio torna-se uma alternativa para o produtor (Grande & Santos, [200-b]).

A matéria nitrogenada do leite é encontrada na proteína verdadeira (caseína, proteínas do soro, e proteoses e peptonas) e sob a forma de nitrogênio não protéico (NNP) (Peres, 2001).

O teor de proteína do leite é determinado analiticamente pelo método Kjeldahl, por meio do teor percentual em nitrogênio da amostra multiplicado pelo fator de conversão 6,38, obtendo assim, o chamado teor de proteína bruta (PB). A proteína verdadeira (PV) corresponde a todos os compostos nitrogenados do leite, exceto a fração não protéica. O NNP representa 5 a 6% do nitrogênio total (NT) do leite (DePeters e Cant, 1992a).

Os ruminantes são hábeis em converter NNP em proteína em razão do metabolismo microbiano ruminal. Devido a esta habilidade, estes compostos, como por exemplo a uréia, são empregados na dieta, principalmente naquelas pobres em proteína bruta (Grande & Santos, [200-a]). Porém, a utilização da uréia na dieta deve ser controlada, uma vez que seu alto consumo conduz a uma formação excessiva e tóxica de amônia. Para que isto não ocorra, é necessário elevar o nível energético da dieta total, para que ocorra uma conversão efetiva da amônia em proteína microbiana no rúmen (Peres, 2001).

O nitrogênio não protéico, como no caso da uréia, é degradado parcial ou totalmente pelas bactérias do rúmen em amônia. Após absorção pelas paredes do rúmen, a amônia segue via sanguínea até o fígado, onde é transformada em uréia, que será normalmente utilizada pelo próprio animal para a produção de proteína. O excesso de uréia formado é distribuído para retornar ao rúmen via saliva e excretado pela urina, sem

causar prejuízo ao animal (Depeters e Ferguson, 1992b; Grande e Santos, [200-b]). A uréia sanguínea, por seu baixo peso molecular, atravessa o epitélio alveolar da glândula mamária difundindo-se no leite (Grande e Santos, [200-a]).

A quantidade de uréia na corrente sanguínea assim como no leite é dependente da relação energia/proteína da dieta. Dietas deficientes em proteínas estão associadas com valores menores de uréia, enquanto que valores elevados de uréia indicam um consumo excessivo de proteínas ou então, um aporte deficiente de energia (Depeters e Ferguson, 1992 b; Grande e Santos, 2006a). O conteúdo de uréia no leite tem chamado a atenção da indústria leiteira e dos pesquisadores na última década. Tal interesse se deve ao aumento do consumo de queijo nos países industrializados. A caseína, que é a principal fonte de proteína presente no leite e de grande importância na fabricação de queijos, diminui com o aumento de uréia no leite (Grande e Santos, [200-b]).

O excesso de uréia no leite está relacionado com maior eliminação de N pelas fezes e urina, o que implica em desperdício do ponto de vista produtivo e contaminação do meio ambiente. Além disto, alguns autores têm demonstrado que o excesso de uréia no leite poderia ter alguns efeitos adversos nos processos de industrialização do leite. Assim, atualmente são realizados estudos visando estabelecer sua relação com a produção de queijo, tempo de coagulação, estabilidade ao calor e outras variáveis do processamento do

leite (Depeters e Ferguson, 1992 b; Grande & Santos, [200-a]). Segundo Grande & Santos (2006b), os níveis recomendados de nitrogênio uréico no leite pela literatura são de 10 a 16 mg/dL. Níveis menores do que 10 e maiores que 16mg/dL podem refletir um inadequado manejo nutricional. As dietas devem ter concentração de proteína na ração e níveis de degradabilidade que não prejudiquem a saúde dos animais e a produção leiteira.

De acordo com Peres (2001), valores individuais de nitrogênio uréico no leite podem variar de 1 até 30 mg/dL. Valores ideais para um rebanho estão compreendidos numa faixa entre 12 e 18 mg/dL. Abaixo de 12mg/dL refletem deficiências protéicas ou excessos de carboidratos na dieta. Por outro lado, se a média do rebanho estiver acima de 18mg/dL, perda energética pela eliminação de uréia, menor taxa de concepção, deficiência imunológica, desperdício de proteína e contaminação do ambiente podem ocorrer.

Muitos fatores afetam a distribuição do nitrogênio entre as várias frações nitrogenadas do leite, tais como clima, nutrição, estado de saúde, estágio de lactação, parição, raça e proteólise bacteriana (DePeters e Cant, 1992a).

Os resultados analíticos que são encontrados na quantificação dos componentes do leite assumem importância cada vez maior, não só para os produtores como também para os laticínios permitindo o pagamento por qualidade do leite. Além disto, estes resultados ainda

permitem ao produtor realizar seleção genética e melhorar o manejo do seu rebanho, aumentando seus lucros pelo aumento dos sólidos totais. Para a indústria, proporciona aumento na margem de lucro, uma vez que a matéria prima de boa qualidade aumenta o rendimento e melhora a qualidade dos seus produtos.

3. OBJETIVOS

3.1 Gerais

Avaliar a interferência da adição de uréia no leite sobre o teor de proteína total e o índice crioscópico do leite cru refrigerado em tanque.

3.2 Específicos

Estabelecer as concentrações da adição de uréia que podem interferir na composição de proteína total das amostras de leite.

Determinar a influência da adição de uréia no índice crioscópico das amostras de leite.

Comparar as alterações ocorridas pela adição de diferentes concentrações de água nas amostras de leite contendo uréia em diferentes concentrações.

Estabelecer mecanismos de detecção de fraude para adição de uréia ao leite do tanque, mediante estimativas de alteração na qualidade do leite.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta, transporte, conservação e preparo das amostras

Amostras de leite cru refrigerado, provenientes de tanque refrigerado da Fazenda Modelo da Escola de Veterinária da UFMG, em Pedro Leopoldo-MG, foram coletadas após homogeneização por cinco minutos do conteúdo do tanque de refrigeração, e colocadas em um latão previamente sanitizado.

Foram coletados, a cada dia, 12 litros de leite procedentes de três ordenhas diferentes, sendo que um litro foi utilizado para fazer o ambiente do latão. O latão foi conduzido imediatamente sob condições isotérmicas a 4°C ao Laboratório Nacional Agropecuário do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (LANAGRO-MG/MAPA) localizado em Pedro Leopoldo, onde o experimento foi realizado como mostra detalhadamente o item 4.3. Após a adição de água e uréia, as amostras foram separadas de acordo com análise a ser realizada.

Para análise de componentes do leite, CCS e CBT, parte dessas amostras foi mantida sob refrigeração (Milk..., 1995b) em recipientes isotérmicos com gelo reciclável e previamente mantidos a temperatura não superior a 10°C, em quantidade suficiente para a manutenção das amostras a uma temperatura não superior a 4°C e sem congelamento. Estas amostras de leite foram enviadas ao Laboratório de

Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (LabUFMG), onde foram analisadas. A outra parte foi analisada no Laboratório Nacional Agropecuário do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (LANAGRO-MG/MAPA). Ao todo, foram realizadas sete coletas em diferentes semanas.

4.2 Análises laboratoriais

4.2.1 Quantificação de componentes (EIVM) e contagem de células somáticas (citometria de fluxo) do leite.

Os componentes do leite (gordura, proteína bruta, lactose e sólidos totais) foram analisados por Espectrometria de Absorção no Infravermelho Médio (EIVM) segundo procedimentos preconizados pela FIL (Whole..., 2000), e a análise de contagem de células somáticas (CCS), por citometria de fluxo (Milk...,1995a).

Para análise de componentes do leite por EIVM e CCS, uma alíquota de 40 mL de cada frasco original representativo do tanque de refrigeração foi tomada e colocada em um frasco de plástico inerte não estéril. Adicionou-se, em cada um destes frascos, um comprimido contendo o conservante bronopol (2-bromo-2nitro-1,3-propanodiol), para garantir a conservação da amostra de leite. Os frascos foram vedados, identificados e as amostras homogeneizadas e enviadas para o

LabUFMG, juntamente com as amostras para análise de CBT.

No LabUFMG, as amostras foram analisadas em duplicatas para os teores de gordura, proteína, lactose, e sólidos totais pelo método de EIVM e a CCS por citometria de fluxo. Os equipamentos foram calibrados por meio de amostras de referência fornecidas pelo Canadá, e foram realizadas checagens de rotina de acordo com o manual dos equipamentos Somacount 300[®] (Somacount..., 1997), Bentley 2000[®] (Bentley..., 1998) e Norma Internacional (Whole..., 2000). Um sistema Combi foi utilizado para as análises, constituído pela combinação dos equipamentos Bentley 2000[®] e Somacount 300[®], denominado Bentley 2300[®].

4.2.2 Contagem indireta de microrganismos a 30°C/72 horas pelo método de citometria de fluxo

Para a contagem indireta de microrganismos a 30°C/72 horas por citometria de fluxo, uma alíquota de 40 mL foi coletada em um frasco de plástico estéril e adicionadas 4 gotas de conservante azidiol por frasco. As amostras de leite para a contagem bacteriana foram vedadas, identificadas e homogeneizadas.

As amostras foram analisadas em duplicatas no equipamento Bactocount[®] (Bactocount..., 2002). O equipamento foi calibrado de acordo com o método de contagem padrão em placa de referência, definindo pela norma Internacional

(Milk...,1991), permitindo a conversão da contagem bacteriana total em contagem padrão, em atendimento à Instrução Normativa nº 51/2002 (Brasil, 2002).

4.2.3 Densidade a 15° C e pH

As amostras foram analisadas de acordo com o procedimento descrito no protocolo do (MAPA) Ministério da Agricultura e Abastecimento (ANEXO 2).

4.2.4 Depressão do ponto de congelamento

As amostras foram analisadas em duplicatas em crioscópio eletrônico Marca Laktron seguindo-se os procedimentos descritos na Instrução Normativa Nº 68/2006 (Brasil, 2006).

4.2.5 Estabilidade ao alizarol e determinação da acidez titulável

As amostras foram analisadas em duplicatas e as determinações da estabilidade do leite ao álcool/alizarol e da acidez titulável foram realizadas seguindo os procedimentos descritos na Instrução Normativa Nº 68/2006 (Brasil, 2006). Deve-se ressaltar que foram utilizadas três concentrações da solução de álcool/alizarol (68° GL, 74° GL e 80° GL).

4.2.6 Análise de proteína bruta pelo método de referência (Kjeldahl)

Para análise de proteína bruta do leite, uma alíquota de 40 mL foi

retirada de cada frasco original representativo do tanque de refrigeração e transferida para um frasco de plástico inerte não estéril. Adicionou-se em cada um destes frascos, um comprimido conservante bronopol (2-bromo-2nitro-1,3-propanodiol), para garantir a conservação da amostra de leite. Os frascos foram vedados, identificados e as amostras homogeneizadas e mantidas sob refrigeração a 4°C, para serem analisados no dia seguinte.

Previamente, um experimento foi realizado para avaliação da interferência da quantidade de nitrogênio contida no comprimido de bronopol na análise de proteína bruta pelo método Kjeldahl. Este experimento revelou ausência de interferência significativa (ANEXO 3).

As amostras foram analisadas em duplicatas de acordo com a norma Internacional (Milk...,1993) e segundo determinação da Instrução Normativa nº 51/2002 (Brasil, 2002a).

4.3 Experimento de avaliação da adição de uréia ao leite

As amostras de leite coletadas do tanque de refrigeração foram divididas em seis frascos contendo cada, 1500 mL de leite. Os frascos foram denominados de Branco e tratamentos de A, B, C, D e E, cada qual referente a uma concentração de uréia diferente (Tabela 2). A adição de uréia foi realizada em capela de fluxo contínuo, previamente preparada conforme recomendações

do fabricante. A amostra chamada de Branco, que não sofreu adição de uréia, foi subdividida em quatro alíquotas de 350 mL. A primeira alíquota foi composta por leite cru refrigerado sem adição de água; a segunda, por leite cru refrigerado com adição de 5% de água destilada; a terceira, com 10% de água destilada; e a quarta, com 15% de água destilada. Ao primeiro frasco de leite denominado de tratamento A, foi adicionado 0,5415 g de uréia de grau analítico (P.A), correspondendo a 0,0361 % de uréia. O conteúdo deste frasco foi subdividido em quatro alíquotas de 350 mL. A primeira alíquota constou de leite cru refrigerado sem adição de água; a segunda teve uma adição de 5% de água destilada, a terceira, adição de 10% de água destilada; e a quarta, de 15% de água destilada. Ao segundo frasco de leite denominado de tratamento B, foram adicionados 1,083 g de uréia de grau analítico (P.A), correspondendo a 0,0722 % de uréia. O conteúdo deste frasco foi subdividido em quatro alíquotas de 350 mL. A primeira alíquota constou de leite cru refrigerado sem adição de água; a segunda teve adição de 5% de água destilada; a terceira, adição de 10% de água destilada; e a quarta, de 15% de água destilada. Ao terceiro frasco de leite denominado de tratamento C foram adicionados 2,166 g de uréia de grau analítico (P.A), correspondendo a 0,1444% de uréia. O conteúdo deste frasco foi subdividido também em quatro alíquotas de 350 mL. A primeira alíquota constou de leite cru refrigerado sem adição de água; a

segunda teve adição de 5% de água destilada; a terceira teve adição de 10% de água destilada; e a quarta, de 15% de água destilada. Ao quarto frasco de leite denominado de tratamento D, foram adicionados 4,332 g de uréia de grau analítico (P.A), correspondendo a 0,2888 % de uréia. O conteúdo deste frasco foi subdividido em quatro alíquotas de 350 mL. A primeira alíquota constou de leite cru refrigerado sem adição de água; a segunda alíquota teve adição de 5% de água destilada; a terceira teve adição de 10% de água destilada; e a quarta, de 15% de água destilada. Ao quinto frasco de leite denominado de tratamento E, foram adicionados 8,664 g de uréia, correspondendo a 0,5776% de uréia. O conteúdo deste frasco foi subdividido em quatro alíquotas de 350 mL. A primeira alíquota constou de leite cru refrigerado sem adição de água; a segunda foi adicionada de 5% de água destilada; a terceira teve adição de 10% de água destilada; e a quarta, de 15% de água destilada. Os conteúdos dos 168 frascos gerados foram homogeneizados por agitação manual visando a dissolução do conservante e a dispersão da uréia adicionada. Em seguida, os frascos foram submetidos, em duplicata, às análises de composição, CBT, CCS, índice crioscópico, densidade, pH, estabilidade, acidez titulável e proteína bruta, como descrito nos itens 4.2.1; 4.2.2; 4.2.3; 4.2.4; 4.2.5; 4.2.6.

Tabela 1. Níveis de concentrações de uréia e água adicionadas para condução de experimento para análise da qualidade de leite cru refrigerado

Uréia % m/m	Adição de água (%)
Branco	0
	5
	10
	15
	0
Tratamento A 0,03615 (0,5415g)	5
	10
	15
	0
	5
Tratamento B 0,7223 (1,083g)	10
	15
	0
	5
	10
Tratamento C 0,1445 (2,166g)	15
	0
	5
	10
	15
Tratamento D 0,2889 (4,332g)	0
	5
	10
	15
	0
Tratamento E 0,5782 (8,664g)	5
	10
	15
	0
	5

4.4 Análise estatística

Para a realização do experimento, utilizou-se o delineamento blocos ao acaso com sete repetições. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias foi realizada por meio do teste de Tukey. Para estimar os níveis de adição de uréia e de adição de água, foi utilizado o modelo de regressão linear (Sampaio, 2002).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estabilidade ao alizarol nas três concentrações (68, 74, e 80° GL) não foi afetada pela adição de água e de uréia devido à reação da uréia com os hidrônios do leite. De acordo com IN N° 51 (BRASIL, 2002), o alizarol atua como indicador de pH, auxiliando na diferenciação entre o desequilíbrio salino e a acidez excessiva. O leite apresentou coloração vermelho tijolo e as

paredes dos tubos de ensaio sem grumos, ou com poucos grumos muito finos, representando uma resposta normal.

Os valores médios do teor de gordura obtidos pelo método EIVM e observados após a adição de água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Teor médio de gordura (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infra-vermelho

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat.A 0,0361	Trat.B 0,0722	Trat.C 0,1444	Trat.D 0,2888	Trat.E 0,5776
0	4,0 ^{Aa}	3,9 ^{Aab}	4,0 ^{Aab}	3,9 ^{Aab}	3,9 ^{Ab}	3,9 ^{Ab}
5	3,8 ^{Ba}	3,8 ^{Bab}	3,9 ^{Bab}	3,7 ^{Bab}	3,7 ^{Bb}	3,7 ^{Bb}
10	3,6 ^{Ca}	3,6 ^{Cab}	3,6 ^{Cab}	3,6 ^{Cab}	3,5 ^{Cb}	3,5 ^{Cb}
15	3,4 ^{Da}	3,4 ^{Dab}	3,4 ^{Dab}	3,4 ^{Dab}	3,5 ^{Db}	3,4 ^{Db}

Médias seguidas por letras diferentes (maiúsculas) nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Observou-se redução significativa no teor de gordura ($p < 0,05$), nas três diferentes concentrações de água em relação ao grupo que não sofreu adição de água (Tabela 2). Porém, mesmo após a aguagem, o leite continuou atendendo aos requisitos físico-químicos estabelecidos pela IN N° 51 (Brasil, 2002).

Em relação à adição de uréia, notou-se diferença significativa ($p < 0,05$) apenas entre o grupo que não teve adição de uréia (Branco) e os tratamentos D e E, em todos os níveis de água. Estes resultados são importantes, pois o rendimento industrial será maior, quanto maior for o teor de gordura do leite, sendo este parâmetro considerado como forma de pagamento por qualidade em algumas indústrias.

De acordo com Esteves (2006), este resultado está relacionado com o princípio de funcionamento do equipamento. A leitura é realizada

pelo comprimento de onda emitido por cada componente e tal equipamento não é capaz de diferenciar se sua origem é do leite ou não. Cada componente é analisado em uma faixa de comprimento de onda. O autor sugere que o espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier seja utilizado nas análises, pois eles possuem uma maior especificidade e acurácia superior na determinação dos comprimentos de onda.

Os valores médios de proteína do leite obtidos pelo método EIVM e observados após a adição de água e de uréia estão descritos na Tabela 3.

Pode-se observar que houve diferença significativa nos teores de proteína ($p < 0,05$) quanto as três diferentes concentrações de água em relação ao grupo que não teve adição de água (Tabela 3). Ocorreu diminuição no teor de proteína em todas as concentrações de água adicionada,

sendo que na adição de 15%, os teores encontrados no branco, tratamentos A, B, C não atenderam

aos requisitos mínimos exigidos pela legislação vigente, a IN N° 51 (Brasil, 2002).

Tabela 3. Teor médio de proteína (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infravermelho

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat.A 0,0361	Trat.B 0,0722	Trat.C 0,1444	Trat.D 0,2888	Trat.E 0,5776
0	3,24 ^{Acd}	3,22 ^{Ad}	3,25 ^{Acd}	3,26 ^{Ac}	3,32 ^{Ab}	3,41 ^{Aa}
5	3,06 ^{Bcd}	3,10 ^{Bc}	3,09 ^{Bcd}	3,11 ^{Bc}	3,12 ^{Bb}	3,23 ^{Ba}
10	2,94 ^{Ccd}	2,94 ^{Cc}	2,95 ^{Ccd}	2,98 ^{Cc}	3,01 ^{Cb}	3,09 ^{Ca}
15	2,79 ^{Dcd}	2,82 ^{Dc}	2,83 ^{Dcd}	2,87 ^{Dc}	2,95 ^{Db}	3,01 ^{Da}

Médias seguidas por letras diferentes (maiúsculas) nas colunas (água) e minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Em relação à adição de uréia, verificou-se que nas maiores concentrações (Trat. D e E), houve aumento do teor de proteína analisada em equipamento eletrônico. A adição de uréia ao leite provocou um falso aumento no teor de proteína do leite, pois a leitura do equipamento não diferencia o nitrogênio protéico do nitrogênio não protéico. Estes resultados também estão em acordo com os trabalhos realizados por Esteves, (2006) e por Roma Júnior (2006). Este fato se torna preocupante, pois como o teor de proteína é um dos parâmetros mais valorizados pelas indústrias no pagamento por qualidade do leite, a adição de uréia pode elevar o teor de proteína de forma fraudulenta. Em outras palavras, a indústria de laticínios pode pagar por maior teor de "proteína", mas não pela proteína verdadeira e necessária para um melhor rendimento industrial.

Além disto, a qualidade nutricional do produto pode também ser alterada. De acordo com a Food and Agriculture Organization e a

Organização Mundial da Saúde (FAO/OMS, 1985), considera-se nível seguro de ingestão de proteína ou dose inócua de proteína a quantidade que irá atingir ou exceder as necessidades nutricionais de praticamente todos os indivíduos do grupo, com níveis moderados de atividade física (equivalente a 10 - 15% de proteína do total da dieta/dia). No caso de crianças, gestantes e lactantes, a necessidade de proteína inclui o gasto com formação de tecidos (crescimento fetal e pós-natal) e com a secreção láctea. Cabe ao profissional envolvido com nutrição, a adequação de uma dieta que contenha alimentos qualitativamente e quantitativamente seguros para a saúde do organismo. Na elaboração de uma dieta, o nutricionista conta com a proteína verdadeira contida no alimento, que no caso do leite é a caseína e as proteínas do soro (Cuppari, 2003).

Os valores médios de proteína bruta obtidos pelo método Kjeldahl e observados após a adição de água e de uréia estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Teor médio de proteína bruta (% m/m) de leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado pelo método Kjeldahl

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat. A 0,0361	Trat. B 0,0722	Trat. C 0,1444	Trat. D 0,2888	Trat. E 0,5776
0	3,09 ^{Af}	3,33 ^{Ae}	3,33 ^{Ad}	3,50 ^{Ac}	3,95 ^{Ab}	4,76 ^{Aa}
5	2,90 ^{Bf}	3,05 ^{Be}	3,16 ^{Bd}	3,29 ^{Bc}	3,74 ^{Bb}	4,60 ^{Ba}
10	2,82 ^{Cf}	2,90 ^{Ce}	3,02 ^{Cd}	3,22 ^{Cc}	3,54 ^{Cb}	4,31 ^{Ca}
15	2,70 ^{Df}	2,78 ^{De}	2,91 ^{Dd}	3,05 ^{Dc}	3,49 ^{Db}	4,15 ^{Da}

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

Observou-se diferença significativa no teor de proteína do leite nas três diferentes concentrações de água em relação ao grupo que não teve adição de água, conforme a Tabela 4. Houve diminuição no teor de proteína em todos os grupos com adições de água, sendo que nas amostras de leite com adição de 10% e 15% de água, os teores de proteína encontrados no branco, e nas adições de 10 e 15% do tratamento A, os requisitos mínimos exigidos pela IN N° 51 (Brasil, 2002) não foram atendidos.

Notou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos A, B, C, D, E e o tratamento sem adição de uréia (Branco) conforme a Tabela 4. Os

resultados de análise de PB do leite cru obtidos por análise por absorção de comprimento de onda no infravermelho médio seguem a mesma tendência dos resultados encontrados pelo método de referência Kjeldahl. Porém, pelo método de referência Kjeldahl os valores encontrados são bem superiores ($p > 0,05$). Tal fato se torna importante, pois o leite brasileiro tem sido analisado utilizando-se o princípio de absorção de comprimento de onda no infravermelho médio em equipamento eletrônico. Resultados semelhantes foram encontrados em pesquisa realizada por Esteves (2006).

Tabela 5. Teor médio de nitrogênio (% m/m) de leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado pelo método Kjeldahl

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat.A 0,0361	Trat.B 0,0722	Trat.C 0,1444	Trat.D 0,2888	Trat.E 0,5776
0	0,4851 ^{Af}	0,5221 ^{Ae}	0,5225 ^{Ad}	0,5487 ^{Ac}	0,6195 ^{Ab}	0,7470 ^{Aa}
5	0,4550 ^{Bf}	0,4784 ^{Be}	0,4960 ^{Bd}	0,5169 ^{Bc}	0,5872 ^{Bb}	0,7215 ^{Ba}
10	0,4427 ^{Cf}	0,4562 ^{Ce}	0,4740 ^{Cd}	0,5051 ^{Cc}	0,5561 ^{Cb}	0,6768 ^{Ca}
15	0,4247 ^{Df}	0,4359 ^{De}	0,4571 ^{Dd}	0,4782 ^{Dc}	0,5469 ^{Db}	0,6522 ^{Da}

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os valores médios de nitrogênio não protéico (NNP) obtidos pelo método Kjeldahl e observados após a adição de água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 5.

Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de nitrogênio do leite nas três diferentes concentrações de água em relação ao grupo que não teve adição de água (amostra controle). Como esperado, a adição de uréia ao leite aumentou o teor de nitrogênio do leite, sendo mais elevado no tratamento E. Notou-se diferença significativa entre os

tratamentos A, B, C, D, E e o tratamento sem adição de uréia (Branco) ($p < 0,05$), conforme a Tabela 5. A adição de uréia ao leite aumentou a concentração de nitrogênio e proporcionou conseqüentemente, um aumento nos níveis de proteína total. Resultados similares foram observados por Esteves (2006) e por Roma Júnior (2006).

Os valores médios de lactose obtidos pelo método EIVM e observados após a adição de água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Teor médio de lactose (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação às seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infravermelho.

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat.A 0,0361	Trat.B 0,0722	Trat.C 0,1444	Trat.D 0,2888	Trat.E 0,5776
0	4,40 ^{Aa}	4,36 ^{Aa}	4,39 ^{Aa}	4,40 ^{Aa}	4,40 ^{Aa}	4,39 ^{Aa}
5	4,19 ^{Ba}	4,22 ^{Ba}	4,21 ^{Ba}	4,19 ^{Ba}	4,16 ^{Ba}	4,22 ^{Ba}
10	4,02 ^{Ca}	4,04 ^{Ca}	4,04 ^{Ca}	4,02 ^{Ca}	4,01 ^{Ca}	4,00 ^{Ca}
15	3,87 ^{Da}	3,88 ^{Ca}	3,88 ^{Da}	3,89 ^{Da}	3,94 ^{Da}	3,89 ^{Da}

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Observou-se diferença significativa no teor de lactose do leite ($p < 0,05$) nas três diferentes concentrações de água (Tabela 6). Quanto à adição de uréia ao leite em diferentes concentrações, não houve diferença significativa entre os teores de lactose dos tratamentos quando comparadas às médias do grupo que não teve adição de uréia (Branco). Em todas as amostras, o teor médio de lactose estava inferior ao valor médio de 4,6%, descrito por Harding (1995). Estes dados estão em desacordo quando comparados aos dados encontrados por Esteves (2006). A

explicação para esse fato, assim como para gordura, está baseada no princípio de funcionamento do equipamento. O comprimento de onda é dividido em quatro faixas, correspondendo a cada componente do leite analisado. No entanto, o comprimento de onda ótimo para um componente pode interferir em outro. Esta interferência é corrigida pela calibração do equipamento. O Brasil não possui calibração própria e as amostras utilizadas são provenientes do Canadá para calibração, podendo, portanto, incorrer em erros nos resultados obtidos (Esteves, 2006).

Os valores médios de sólidos totais (EST) observados após a adição de

água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7. Teor médio de sólidos totais (EST) (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infravermelho.

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat.A 0,0361	Trat.B 0,0722	Trat.C 0,1444	Trat.D 0,2888	Trat.E 0,5776
0	12,69 ^{Aab}	12,53 ^{Ab}	12,62 ^{Ab}	12,60 ^{Ab}	12,69 ^{Aab}	12,79 ^{Aa}
5	12,00 ^{Bab}	12,10 ^{Bb}	12,02 ^{Bb}	12,00 ^{Bb}	11,92 ^{Bab}	12,15 ^{Ba}
10	11,50 ^{Cab}	11,49 ^{Cb}	11,50 ^{Cb}	11,48 ^{Cb}	11,50 ^{Cab}	11,58 ^{Ca}
15	10,94 ^{Dab}	11,02 ^{Db}	11,03 ^{Db}	11,07 ^{Db}	11,28 ^{Dab}	11,28 ^{Da}

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Conforme a Tabela 7, notou-se diferença significativa no teor de sólidos totais em leite nas três diferentes concentrações de água em relação ao grupo que não teve adição de água, havendo diminuição significativa nos teores de EST ($p < 0,05$). A adição de uréia ao leite não alterou a média do EST quando comparada com a amostra controle (sem adição de uréia e água). Apenas as amostras submetidas à adição de 15% de água e a diferentes concentrações de uréia apresentaram valores de EST inferiores ao padrão legal estabelecido pela IN 51 (Brasil, 2002).

Segundo a Tabela 7, a adição de uréia em baixas concentrações e de até 10% de água não reduz o valor do EST ao ponto de ultrapassar o valor estabelecido pela IN 51 (Brasil, 2002). Tal fato é grave e pode, na rotina da indústria, proporcionar a captação de leite fraudado e ainda, de leite com teor de EST acima do

mínimo estabelecido pela legislação, mas com relativo baixo teor de EST.

As determinações do EST e do ESD são importantes para avaliar a composição do leite e sua integridade, permitindo estimativas quanto ao rendimento de produtos derivados do leite na indústria, além de favorecer sua classificação e destino (Picinin, 2003).

Os teores médios de extrato seco desengordurado (ESD), observados após a adição de água e de uréia ao leite, estão descritos na Tabela 8.

Pode-se observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de extrato seco desengordurado (ESD) nas três diferentes concentrações de água em relação ao grupo que não teve adição de água (Tabela 8). A uréia elevou o teor médio de ESD apenas nas amostras de leite dos tratamentos D e E quando comparadas as do grupo controle.

Tabela 8. Teor médio de extrato seco desengordurado (ESD) (% m/m) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia, analisado por absorção de comprimento de onda no infravermelho

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco	Trat.A	Trat.B	Trat.C	Trat.D	Trat.E
	0	0,0361	0,0722	0,1444	0,2888	0,5776
0	8,61 ^{Ac}	8,54 ^{Ac}	8,60 ^{Ac}	8,63 ^{Abc}	8,71 ^{Ab}	8,82 ^{Aa}
5	8,17 ^{Bc}	8,24 ^{Bc}	8,21 ^{Bc}	8,22 ^{Bbc}	8,20 ^{Bb}	8,40 ^{Ba}
10	7,83 ^{Cc}	7,85 ^{Cc}	7,86 ^{Cc}	7,88 ^{Cbc}	7,91 ^{Cb}	8,01 ^{Ca}
15	7,48 ^{Dc}	7,53 ^{Dc}	7,55 ^{Dc}	7,61 ^{Dbc}	7,76 ^{Db}	7,80 ^{Da}

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os resultados dos valores médios da densidade relativa observados após a adição de água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 9.

A adição de água não alterou significativamente a densidade relativa do leite a 15°C ($p < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey (Tabela

9). Provavelmente, este resultado está relacionado ao teste de Tukey por ser muito rigoroso. De acordo com Carvalho et al. (1991), o estabelecimento de valores com padrão regional para a densidade relativa é útil como aperfeiçoamento de medidas de controle da qualidade do leite.

Tabela 9. Densidade relativa a 15 °C em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação seis diferentes concentrações de uréia

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco	Trat.A	Trat.B	Trat.C	Trat.D	Trat.E
	0	0,0361	0,0722	0,1444	0,2888	0,5776
0	1,0306 ^{Aa}	1,0321 ^{Aa}	1,0308 ^{Aa}	1,0315 ^{Aa}	1,0312 ^{Aa}	1,0319 ^{Aa}
5	1,0290 ^{Aa}	1,0287 ^{Aa}	1,0292 ^{Aa}	1,0295 ^{Aa}	1,0297 ^{Aa}	1,0303 ^{Aa}
10	1,0274 ^{Aa}	1,0277 ^{Aa}	1,0278 ^{Aa}	1,0279 ^{Aa}	1,0280 ^{Aa}	1,0291 ^{Aa}
15	1,0257 ^{Aa}	1,0263 ^{Aa}	1,0264 ^{Aa}	1,0267 ^{Aa}	1,0272 ^{Aa}	1,0278 ^{Aa}

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

Os valores médios da contagem de células somáticas (CCS) do leite observados após a adição de água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 10.

Diferença significativa na CCS média foi observada nas amostras de leite

submetidas a três diferentes concentrações de água em relação ao grupo controle (Tabela 10). A uréia não alterou significativamente a CCS do leite dos grupos A, B, C em relação ao não tratado, mas reduziu a CCS dos tratamentos D e E ($p < 0,05$).

Tabela 10. Contagem média de células somáticas (cél./mL) de leite submetido a diferentes concentrações de água e de uréia analisada por absorção de comprimento de onda no infra-vermelho

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat. A 0,0361	Trat. B 0,0722	Trat. C 0,1444	Trat. D 0,2888	Trat. E 0,5776
0	499.000 ^{Aa}	491.428 ^{Aab}	465.857 ^{Aab}	451.571 ^{Aab}	435.142 ^{Ab}	448.571 ^{Ab}
5	461.142 ^{Ba}	451.285 ^{Bab}	441.714 ^{Bab}	424.000 ^{Bab}	421.714 ^{Bb}	447.571 ^{Bb}
10	436.857 ^{Ca}	424.285 ^{Cab}	424.714 ^{Cab}	409.571 ^{Cab}	406.714 ^{Cb}	406.142 ^{Cb}
15	396.000 ^{Da}	410.571 ^{Dab}	409.428 ^{Dab}	427.428 ^{Dab}	393.428 ^{Db}	384.857 ^{Db}

Médias seguidas por letras diferentes (maiúsculas) nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

A adição de água e de uréia ao leite não alterou a contagem bacteriana total média das amostras analisadas ($p > 0,05$), conforme a Tabela 11.

Tabela 11. Contagem bacteriana total média (UFC/mL) de leite submetido a diferentes concentrações de água e de uréia analisada por absorção de comprimento de onda no infra-vermelho

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat. A 0,0361	Trat. B 0,0722	Trat. C 0,1444	Trat. D 0,2888	Trat. E 0,5776
0	401.000 ^{Aa}	328.000 ^{Aa}	343.428 ^{Aa}	283.285 ^{Aa}	521.571 ^{Aa}	304.857 ^{Aa}
5	519.428 ^{Aa}	404.857 ^{Aa}	518.857 ^{Aa}	407.857 ^{Aa}	284.000 ^{Aa}	345.714 ^{Aa}
10	394.428 ^{Aa}	359.428 ^{Aa}	337.714 ^{Aa}	308.285 ^{Aa}	328.285 ^{Aa}	345.428 ^{Aa}
15	466.500 ^{Aa}	322.571 ^{Aa}	424.857 ^{Aa}	404.285 ^{Aa}	266.571 ^{Aa}	280.000 ^{Aa}

Médias seguidas por letras diferentes (maiúsculas) nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os valores médios do pH do leite observados após a adição de água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 12.

Tabela 12. Valor médio de pH em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação a seis diferentes concentrações de uréia

Água (%)	Uréia (%)					
	Branco 0	Trat. A 0,0361	Trat. B 0,0722	Trat. C 0,1444	Trat. D 0,2888	Trat. E 0,5776
0	6,84 ^{Ab}	6,81 ^{Ab}	6,83 ^{Ab}	6,71 ^{Aa}	6,87 ^{Aa}	6,93 ^{Aa}
5	6,86 ^{Ab}	6,83 ^{Ab}	6,82 ^{Ab}	6,90 ^{Aa}	6,91 ^{Aa}	6,89 ^{Aa}
10	6,83 ^{Ab}	6,85 ^{Ab}	6,85 ^{Ab}	6,89 ^{Aa}	6,87 ^{Aa}	6,92 ^{Aa}
15	6,81 ^{Ab}	6,84 ^{Ab}	6,85 ^{Ab}	6,89 ^{Aa}	6,88 ^{Aa}	6,91 ^{Aa}

Médias seguidas por letras diferentes (maiúsculas) nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Notou-se que não houve diferença significativa no pH do leite submetido às três concentrações de água em relação à amostra controle

(Tabela 12). A adição de uréia não alterou o pH dos leites submetidos aos tratamentos A e B, mas modificou o pH dos leites dos grupos C, D e E ($p < 0,05$).

Os valores médios do índice crioscópico observados após a adição de água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13. Interação do índice crioscópico ($^{\circ}\text{H}$) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação às seis diferentes concentrações de uréia

Água (%)	Uréia (% m/m)					
	Branco 0	Trat. A 0,0361	Trat. B 0,0722	Trat. C 0,1444	Trat. D 0,2888	Trat. E 0,5776
0	-0,5441 ^{Aa}	-0,5574 ^{Aa}	-0,5721 ^{Aa}	-0,5356 ^{Aa}	-0,6437 ^{ABa}	-0,6650 ^{Aa}
5	-0,5119 ^{Bc}	-0,5253 ^{Ab}	-0,5412 ^{Ab}	-0,5571 ^{Ab}	-0,6078 ^{Aab}	-0,6948 ^{Aa}
10	-0,4868 ^{Ca}	-0,4985 ^{Aa}	-0,5146 ^{Aa}	-0,5308 ^{Aa}	-0,5785 ^{Ba}	-0,6652 ^{Aa}
15	-0,4619 ^{Ca}	-0,4746 ^{Aa}	-0,4917 ^{Aa}	-0,5074 ^{Aa}	-0,4969 ^{Ba}	-0,6352 ^{Aa}

Médias seguidas por letras diferentes (maiúsculas) nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Observou-se diferença significativa no índice crioscópico do leite submetido à adição de água ($p < 0,05$) em todos os tratamentos com relação à amostra controle (Tabela 13). Observou-se que a adição de uréia não interferiu no índice crioscópico do leite. No entanto, quando houve adição de 5% de água e de uréia, notou-se diminuição significativa do índice crioscópico. Em alguns tratamentos, a adição de água e uréia alterou o índice crioscópico, tornando as amostras inapropriadas de acordo com a IN N^o 51/ (Brasil, 2002).

Os resultados em relação à adição de água estão de acordo com Rodrigues et al. (1991). Qualquer adição de água que torne a solução de lactose e sais mais diluída aumentará o ponto crioscópico, aproximando-o de 0°C . A verificação do ponto crioscópico confere segurança na detecção de fraude por aguagem do leite, sendo considerada como prova de precisão de acordo com a legislação em vigor

Pesquisa realizada por Fonseca (1992) mostrou que há necessidade de levantamentos e mais pesquisas para se estabelecer valores reais para o índice crioscópico, levando em consideração as diferenças entre as regiões.

Os resultados encontrados em relação à adição de uréia vêm comprovar que as fraudes no leite por adição de substâncias solúveis reduzem o seu ponto de congelamento, afastando-o do ponto de congelamento da água, sendo esta redução, dependente da quantidade de substância adicionada. A ocorrência de adição de água e de mais alguma substância solúvel dificulta a realização da prova e os resultados variam de acordo com a quantidade de água ou soluto adicionado (Rodrigues et al., 1991; Santos, 2000).

Os valores médios de acidez titulável observados após a adição de água e de uréia ao leite estão descritos na Tabela 14.

Tabela 14. Interação da acidez titulável (g/100 g) em leite submetido a diferentes concentrações de água em relação às seis diferentes concentrações de uréia

Água (%)	Uréia (% m/m)					
	Branco 0	Trat.A 0,0361	Trat.B 0,0722	Trat.C 0,1444	Trat.D 0,2888	Trat.E 0,5776
0	0,14571 ^{Ab}	0,14000 ^{Ab}	0,14000 ^{Ab}	0,14429 ^{Ab}	0,16286 ^{Aa}	0,14286 ^{Ab}
5	0,13143 ^{ABa}	0,13286 ^{ABa}	0,13286 ^{ABa}	0,13429 ^{ABa}	0,13286 ^{Ba}	0,13143 ^{ABa}
10	0,12571 ^{Ba}	0,12714 ^{ABa}	0,12714 ^{ABa}	0,12857 ^{Ba}	0,12714 ^{Ba}	0,12714 ^{Ba}
15	0,12286 ^{Ba}	0,12143 ^{Ba}	0,12286 ^{Ba}	0,12143 ^{Ba}	0,12000 ^{Ba}	0,12000 ^{Ba}

Médias seguidas por letras diferentes (maiúsculas) nas colunas (água) e por letras minúsculas nas linhas (uréia) diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Pode-se observar que a adição de água reduziu a acidez do leite, mas a uréia não alterou a acidez da amostra controle, exceto no leite submetido ao tratamento D sem adição de água ($p < 0,05$). Considerando a adição de uréia e de água ao leite, verificou-se que não houve diferença estatística ($p > 0,05$).

Quando a acidez da amostra controle (sem adição de água e de uréia) for

0,14 g/100 g de leite, a fraude é facilmente perceptível. No entanto, se a amostra controle estivesse com acidez de 0,17 a 0,18 g/100 g de leite, o leite do Tratamento B na concentração de água de 5% e do Tratamento C na concentração de água de 10% estariam com acidez normal. Portanto, leite com acidez titulável baixa pode ser indicativo de adição de água e uréia.

6. CONCLUSÕES

A uréia adicionada ao leite cru proporcionou um aumento significativo dos teores de PB, ST, ESD quando quantificados pelo método EIVM, sendo que o resultado do teor da PB pela absorção de comprimento de onda foi similar ao quantificado pelo método Kjeldahl. A uréia aumentou os níveis de proteína total, mesmo após a adição de água.

As adições de água e de uréia afetam significativamente o índice crioscópico do leite, sendo a detecção desta propriedade dificilmente identificada.

A uréia somente alterou o teor de gordura quando adicionada em maiores concentrações ao leite, enquanto que os teores de lactose não foram modificados pela adição desta substância.

As adições de uréia e de água não interferiram nos valores de CBT, mas, em maiores concentrações, a uréia reduziu a CCS do leite. A fraude por adição de água reduz a CCS do leite.

A composição físico-química do leite cru refrigerado apresentou alteração em todos os tratamentos em que houve adição de água.

Leite com acidez titulável baixa, provavelmente, pode ser indicativo de adição de água e uréia.

No caso de resultados considerados suspeitos quando obtidos por EIVM, como teor de proteína acima de 3,4%, acidez titulável baixa e índice crioscópico alto, deve-se solicitar a análise pelo método Kjeldahl ou análise para detecção de uréia no leite.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIOT, J. Valor nutritivo de la leche y productos lácteos. In:___ *Ciencia y tecnologia de la leche*. Zaragoza: Acribia, 1991. cap. II, p.55-75.

BACTOCOUNT 150 Operator's Manual. Chaska: Bentley Instruments Inc., 2002. 49p

BAILEY, W. K. An introduction to milk marketing. In: *MARKETING and pricing of milk and dairy products in the United States*. Iowa: Iowa State University Press, 1997. cap.1, p.3.

BAUMAN, D. E.; MATHER, I. H.; WALL, R. J.; LOCK, A. L. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science*, v.89, n. 4, p.1235-1243, 2006.

BENTLEY 2000 Operator's Manual. Chaska: Bentley Instruments Inc., 1998. 79p

BORSARI, P. L. A importância da análise microscópica e histológica em leites e derivados. *Aditivos e Ingredientes*, n.16, 2001. Disponível em: <<http://www.cerelab.com.br/Aditivos%2008%20Ingredientes%20N%C2%BA16.pdf>>. Acessado em: 12/03/2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 51, de 18 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, DF, 20 de setembro de 2002. Seção 1, p. 13.

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. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 14 de dezembro 2006. Seção 1, p. 8.

BRITO, M. A.; BRITO, J. R.; ARCURI, E. et al. *Pagamento por qualidade*. [200-]b. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_200_21720039247.html>. Acessado em :15/03/2007.

CARVALHO, L. C.; ROCHA, J. M.; TANEZINI, C. A. Densidade do leite cru produzido em Goiás. *Agropecuária Tropical*, v.22, n.1, 1992. Disponível em: <<http://200.137.221.132/index.php/pa/article/viewArticle/2601>>. Acessado em: 10/12/2008.

CARVALHO, M. P. Melhoria na qualidade do leite. *Revista Milkpoint*, 08/01/2008, 2008a. Disponível em: <www.milkpoint.com.br/melhoria-da-qualidade-do-leite-reflexoes_noticia_41932_50_124_.aspx>. Acessado em: 20/09/2008.

CARVALHO, P. C. Lições da China. *Revista Milkpoint*. 15/10/2008, 2008b. Disponível em:

www.milkpoint.com.br/?actA=9&roN=1&areaID=73&referenciaURL=noticiaID=48875||actA=7||areaID=50|secaoID=124>. Acessado em 15/10/2008.

CEBALLO, P. P. Mejora de la calidad de la leche un factor estratégico en la calidad competitiva del sector lechero. In WORKSHOP “SÍNDROME DO LEITE ANORMAL E QUALIDADE DO LEITE”, 1999, São Paulo, SP. *Anais...* São Paulo, SP: Universidade de São Paulo, 1999.

CERQUEIRA, M. M.O.P.; SOUZA, M.R.; SENA, M.J. ET AL. Fatores determinantes na qualidade do leite: estudo de uma indústria de laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.54, n.304, p. 241-245, 1999.

COELHO, R. G.; REIS, N. T.; DOMENE, S. M. A. Interações nutricionais. In: REIS, N. T. *Nutrição clínica-interações*. Rio de Janeiro: Rubio, 2004. Cap.6, p.393-426.

CUPPARI, L. *Nutrição: nutrição clínica no adulto*. São Paulo: Manole, 2002. p.3-54

DePETERS, E. J.; CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 8, p.2043-2070, 1992a.

DePETERS, E. J.; FERGUSON, J. D.,b. Nonprotein Nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 8, p.3192-3209, 1992b.

DÜRR, J. W.;FONTANELI, R, S.;MORO,D.V. Determinação laboratorial dos componentes do leite. In: USO do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. cap 2, p. 23

DÜRR, J.W. Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite: uma oportunidade única. In: DÜRR,J.W.; CARVALHO,M. P.; SANTOS, M.V. *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil* . Passo Fundo: UPF, 2004. Cap 2, p. 38-55.

EL PAPEL de los productos lácteos en la nutrición humana. *Lecheria Latinoamericana*, n. 22, p.3-54, 1988.

ESTEVES, E.G. *Componentes nitrogenados: metodologias analíticas e associações com outros indicadores de qualidade do leite cru refrigerado*. 2006. 160f. Dissertação de (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

FIGUEIREDO, M. G.; PORTO, E. Avaliação do impacto da qualidade da matéria-prima no processamento industrial do iogurte natural *Revista de Laticínios*, set./out., 2002. Disponível em: www.revistalaticinios.com.br/main/frame/revista/ed41/_pdfs/fm.pdf>. Acessado em: 27/03/2007.

FONSECA, M. L. *Efeitos da pasteurização e da esterilização sobre a depressão do ponto de congelamento do leite, medido nas escalas Hortvet e Celsius*. 1992. 48f. Dissertação de (Mestrado) - Escola

de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

FONSECA, L. M.; RODRÍGUEZ, R., SOUZA, M. R. Índice crioscópico do leite. *Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG*, n.13, p.73-83, 1995.

FONSECA, L. F.L. Pagamento por qualidade: situação atual e perspectiva para o setor lácteo brasileiro. *Revista Milkpoint*, 03/09/2001. Disponível em : <<http://www.milkpoint.com.br/mn/utills/print.asp?artigo+1209>>. Acessado 21/08/2008

GRANDE, P. A. ; SANTOS, G. T. O uso do perfil metabólico na nutrição de vacas leiteiras. [200-a] <<http://www.nupel.uem.br/perfilmetabolico-vacas.pdf>>. Acessado em: 27 de setembro de 2006.

GRANDE, P. A. ; SANTOS, G. T., b. Níveis de uréia no leite como ferramenta para utilização das fontes de proteínas na dieta das vacas em lactação. [200-b]. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/perfilmetabolico-vacas.pdf>>. Acessado em: 27 de setembro de 2006.

GRAPPIN, R. bases and experiences of expressing the protein content of milk. *Journal of Dairy Science*, v.75, n.11, p.3221-3227, 1992.

HARDING, F. *Milk quality*. London: Blackie Academic & Professional, 1995. 166p.

IBARRA, A. A. Sistema do pagamento do leite por qualidade. In:

DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. (Org.). *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo: UPF Editora, 2004. p. 72-86.

KERPUDE, A.A.; RATHI, S.D., JOGLEKAR, N.V.; INGLE, U.M. Adulteration of milk in Parbhani Town. *Asian Journal of Dairy Research*, v. 6, n.2, p. 83-86, 1987.

KITCHEN,B.J. Reviews of the progress of dairy: milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research*, v.48, n.1, p. 167-188,1981.

LARANJA, L.F. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema de resfriamento. In : SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998. Curitiba, PR. *Anais...* Curitiba: [s.n.], 1998. p54-57.

LÖNNERDAL, B. Bioactive proteins: clinical applications for gastrointestinal health. *Bulletin of the International Dairy Federation*, n.375, p.22-24, 2002.

MACHADO, M. G. M.; FREIRE, V. H.; SILVA, P. C. et al. Aproveitamento do soro. In: _____. *Minas ambiente: controle ambiental nas pequenas e médias indústrias de laticínios*. Belo Horizonte: Segrac, 2002. cap.4, p.79-96.

MILK : determination of nitrogen content. *International IDF Standard*, 20B, 1993:

- MILK : enumeration of somatic cell. *International IDF Standard*, 148, 1995a.
- MILK and milk products : guidance on sampling. *International IDF Standard*, 50C, 1995b.
- MILK and products : enumeration of microorganisms – colony count technique at 30°C. *International IDF Standard*, 100B, 1991.
- MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Québec, Canadá. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba- PR. *Anais...* Curitiba: UFPR, 1998. p.40-43.
- MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo: UPF, 2004. cap 1, p. 9-37
- NECESSIDADES de energia y proteínas. Genebra: FAO / OMS, 1985. 220p.
- PIRES, A. S. Fraudes em leite de consumo: limites de detecção. *Jornal da Produção de Leite – PDPL/RV*. Viçosa, v. 12, n.140. Disponível em : http://www.ufv.br/pdpl/jornal/jp11000_j.tm. Acessado em 11/08/2006.
- PERES. J. R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZALEZ, H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- PHILPOT, W.N. Importância da contagem de células somáticas e outros fatores que afetam a qualidade do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. *Anais...* Curitiba: [s.n.], 1998a. p.28-35.
- PHILPOT, W.N. Programas de qualidade de leite no mundo. . In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998. Curitiba. *Anais...* Curitiba: [s.n.], 1998b. p.1-6.
- PICININ, L. C. A. *Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais*. 2003. 89f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- PONCE, P. C.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária 2001. In: GONZALEZ, H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- PORTER, J. W. G. El valor nutritivo de la leche para el hombre. In: _____. *Leche y productos lácteos*. Zaragoza : Acibia, 1981. cap.2, p.16-23.
- REGULAMENTO da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Brasília: Ministério da Agricultura, 1980. 166p.

RODRIGUES, R.; SANTOS, E. C.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; RUBINICH, J. *Crioscopia do leite*. Belo Horizonte: EV/UFMG, 1991.

ROMA JÚNIOR, L.C.; FISCHER, P.C.; AMARAL, T.G.R. et al.. Influência da fraude com uréia sobre os componentes do leite durante armazenamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia, GO *Anais...* Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2006.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 221p.

SANTOS, M. V. Efeito da temperatura do leite sobre os resultados do teste do álcool. Qualidade do leite. *Revista Milkpoint*, 12/11/2004. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/efeito-da-temperatura-do-leite-sobre-os-resultados-do-teste-do-alcool_noticia_21629_61_180.aspx>. Acessado em 27/11/08.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Composição e propriedades físico-químicas do leite. In: CURSO ONLINE SOBRE MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO LEITE. Agripont, 2000. Módulo 1. Disponível em:<http://paraiso.etfto.gov.br/docente/ad_min/upload/docs_upload/material_d34ed8052e.pdf>. Acessado em :

SILVA, P.H.F.; PEREIRA, D. B. C.; OLIVEIRA, L. L.; JÚNIOR, L. C. G.

C. *Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos*. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora Ltda, 1997. 190p.

SOMACOUNT 300 Operator's Manual. Chaska: Bentley Instruments Inc., 1997. 116p.

SPREER, E.; Elaboracion de queso. In: _____. *Lactologia industrial*. Zaragoza: Acribia, 1995. cap 7.

TEIXEIRA, N. M.; FREITAS, A, F.; BARRA, R. B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos do estado de Minas Gerais. Belo Horizonte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55, n.4, p.491-499, 2003.

TRONCO, V. M.; *Manual para inspeção de qualidade de leite*. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1997.

TURNBULL, A.D. Qualidade total na cadeia de lácteos da Nova Zelândia : da fazenda ao consumidor. In: PORTUGAL, J.A.B.; NEVES, B.S.; OLIVEIRA, A.C.S.; SILVA, P.H.F.; BRITO, M.A.V.P. *Segurança alimentar na cadeia do leite*. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora Ltda, 2002.

VEISSEYRE, R. *Lactologia técnica: composición recogida, tratamiento y transformacion de la leche*. Zaragoza: Acribia, 1998. p.1-10.

VELLOSO, C. *As ações do Ministério para o combate à fraude de leite no Brasil*. 2003. Disponível

em:

<http://milkpoint.com.br/?actA=7&areaID=50&secaoID=126¬iciaID=8435> >.

Acessado em: 25/04/2007

WALSTRA, P. Payment of milk according to protein content in Netherlands. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 11, p. 3228-3230, 1992.

WALSTRA, P.; JENNESS, R.; BADINGS, H. T. Valor nutrition. In: _____. *Química y física lactológica*. Zaragoza: Acribia, 1987. cap. 19, 320-336.

WHOLE milk : determination of milkfat, protein and lactose content. Guidance on the operation of mid-

infrared instruments. *International IDF Standard*, 141C, 2000.

ZOCHE, F.; BERSPT, L.S.; BARCELLOS, V.C. et al. 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. Disponível em: <<http://calvados.c3sl.ufr.br/ojs2/index.php/Veterinary/article/viewPDFInterstitial/3982/3222>>. Acessado em 27/03/2007.

ZOCAL,R. Produção de Leite, Vacas Ordenhadas e Produtividade Animal no Brasil – 1980/2008. Embrapa Gado de Leite. <http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0230.php>. Acessado em 03/04/2009.

ANEXOS

Anexo 1 - Protocolo do Ministério da Agricultura e Abastecimento(MAPA) para a realização de análise de pH.

Cuidados:

- Instalar o pH-metro em superfície plana, nivelada e livre de vibrações;
- Conectar o pH-metro à rede elétrica de **110 volts**;
- O pH-metro deve estar protegido de: irradiações quentes (estufas, banhos, muflas, aquecedores), exposição a raios solares e atmosferas químicas agressivas;
- Lavar o eletrodo com bastante água destilada após a leitura de cada amostra e caso necessite, pode-se lavar com sabão neutro diluído;
- Quando não estiver em uso, manter sempre o eletrodo em solução de KCl 3 M acidificado;
- Manusear o pH-metro cuidadosamente, evitando movimentos bruscos;
- Manter o pH-metro em “**STAND BY**” quando não estiver em uso;
- Preferencialmente, o pH-metro deverá ser desconectado da rede elétrica nos finais de semana e feriados prolongados.

Procedimentos:

- Verificar se o pH-metro esta conectado a rede elétrica, caso contrário, conectar;
- Retirar a capa de proteção do aparelho;
- Verificar o pHmetro preenchendo corretamente os campos do FORM/POA/PL/0094 – Controle de Calibração de pHmetro.
- Retirar a borracha vermelha do orifício do eletrodo e aguardar cerca de 30 minutos antes do uso;
- Verificar se o pH-metro está calibrado na pasta, senão proceder à calibração do mesmo;
- Ajustar a temperatura do aparelho para a temperatura ambiente no botão de temperatura que varia de 0 a 100°C;
- Retirar o eletrodo da solução de KCl 3 M acidificado e lavá-lo com bastante água destilada e enxugá-lo em seguida com papel absorvente macio;
- Introduzir o eletrodo no recipiente que contém a amostra a ser analisada (que deverá encontrar-se à temperatura ambiente) e apertar o botão “Meas”;
- Aguardar 1 minuto para leitura;
- Apertar o botão “**STAND BY**” e retirar o eletrodo do recipiente que contém a amostra e lavá-lo com bastante água destilada, enxugando-o em seguida para proceder a nova leitura;
- Ao término, lavar o eletrodo com bastante água destilada, enxugar com papel absorvente macio e imergir o eletrodo na solução de KCl 3 M acidificado e recolocar a borracha vermelha no orifício;
- Colocar a capa protetora.

Anexo 2 - Protocolo do Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA) para a realização de análise de densidade relativa a 15°C

Especificações:

Nome do equipamento: Medidor de Densidade

Marca: Anton Paar

Modelo: DMA 4500

RP: 005.812

Cuidados

- Antes de ligar o **densímetro digital** certifique-se de que a voltagem da fonte de energia elétrica é compatível com a demanda de energia do equipamento, de 110 Volts;
- Para limpeza externa do **densímetro digital**, usar um pano seco;
- Empregar nas análises sempre seringas plásticas;
- Substituir o material absorvente presente nos cartuchos de secagem do ar (Figura 1) quando este adquirir coloração laranja. O material absorvente empregado deve possuir coloração vermelha. O material absorvente poderá ser regenerado por aquecimento a uma temperatura não superior a 130°C por 5 horas;
- Conferir no início de cada rotina diária do equipamento se a mangueira oriunda do cartucho de secagem do ar se encontra acoplada à conexão “DRY AIR PUMP”, localizada na face traseira do equipamento, conforme Figura 1;
- Manter um recipiente abaixo da abertura AIR OUT;
- Empregar preferencialmente seringas de plástico.

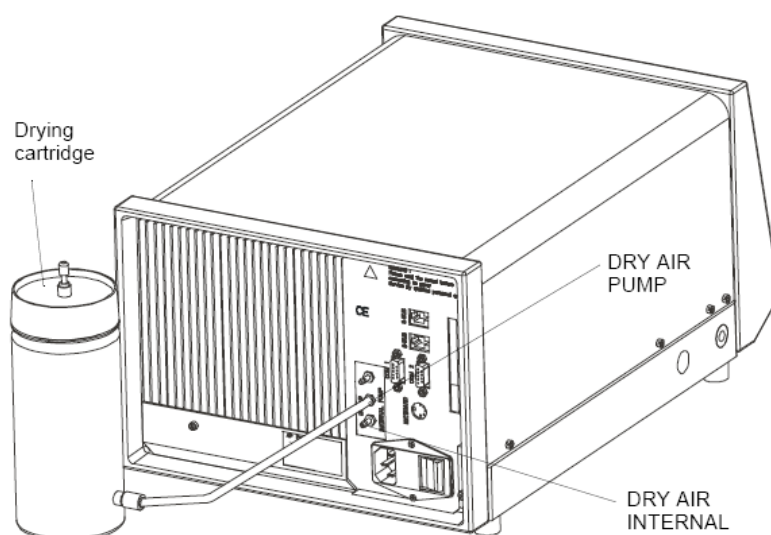


Figura 1. Face traseira do medidor de densidade DMA 4500.

- Garantir que uma mangueira de silicone encontre-se conectada à abertura **AIR OUT** existente na lateral direita do equipamento, conforme Figura 2;

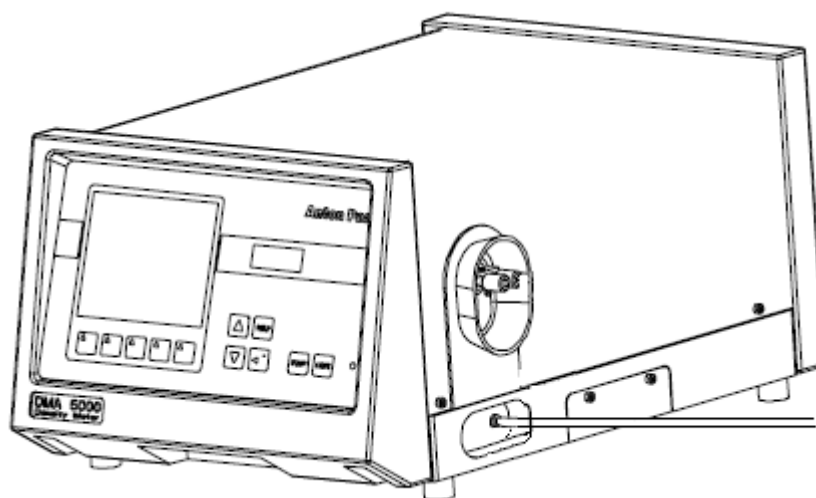


Figura 2. Conexão de mangueira à abertura AIR OUT.

Procedimento

- Retirar a tampa da abertura superior do cartucho de sílica dessecante do ar direcionado à bomba de ar;
- Ligar o cabo de alimentação do equipamento à fonte de energia;
- Ligar o equipamento por meio do botão liga-desliga presente na face traseira;
- Aguardar a execução e conclusão dos autotestes do software do equipamento;
- Conectar a mangueira oriunda do frasco do esgoto no orifício de purga do dispositivo de alimentação e purga do tubo em “U” oscilante, conforme Figura 3;

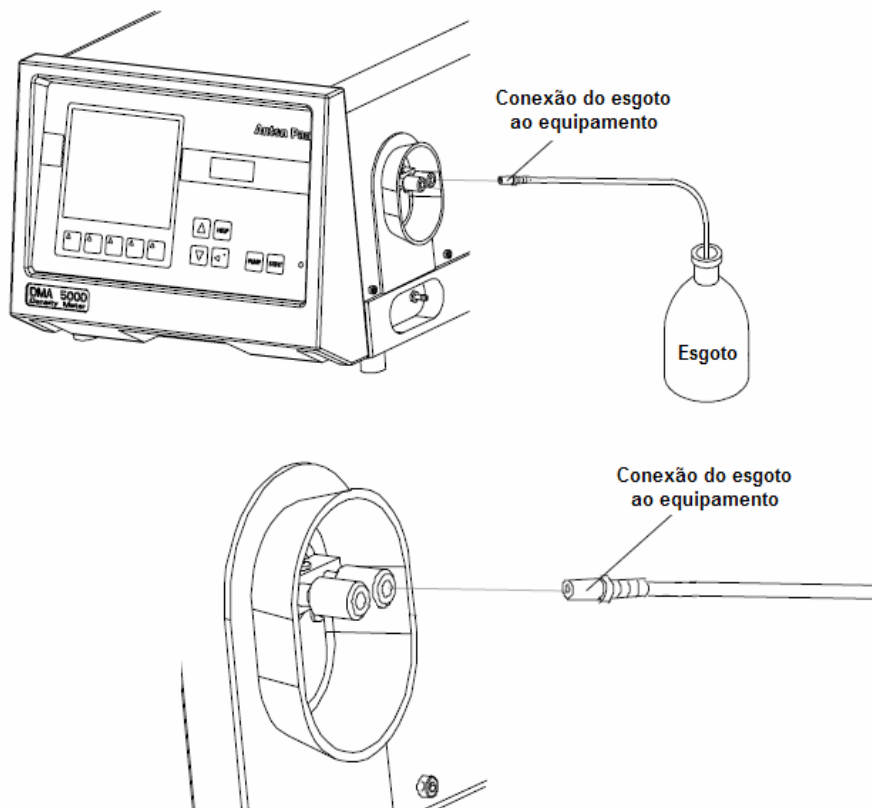


Figura 3. Conexão do esgoto ao equipamento.

- Por meio do teclado vertical presente na face dianteira do equipamento (Figura 4), acessar o **Menu** de acesso às opções do software do equipamento, abrindo a tela **MAIN MENU**;



Figura 4. Teclado vertical existente na face dianteira do equipamento.

- Selecionar por meio das teclas ▲ e ▼ do teclado vertical a opção adjustment (Figura 5);

Pump	MAIN MENU
	temperature setting
	adjustment
	measurement settings
	instrument settings
	method settings
	user functions
	custom function verification
	data memory
	testmode
	service testmode

Figura 5. Opção **adjustment**.

- Pressionar a tecla ↵ do teclado vertical;
- Na tela **ADJUSTMENT** que se abre, selecionar, por meio das teclas ▲ e ▼ do teclado vertical, a opção **density check** (Figura 6);

Pump	ADJUSTMENT
	adjust
	view adjustment data
	print adjustment data
	print adjustment history
	activate factory adjustment
	density check

Figura 6. Opção **density check**.

- Pressionar a tecla ↵ do teclado vertical;
- Na tela **DENSITY CHECK** que se abre, selecionar, por meio das teclas ▲ e ▼ do teclado vertical, a opção **check density** (Figura 7);

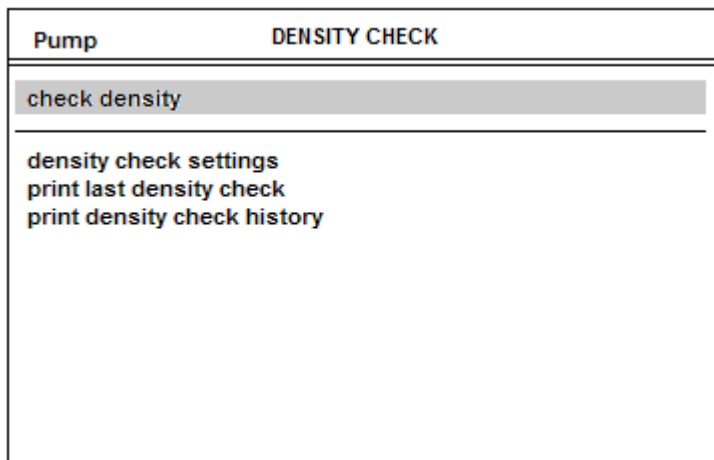


Figura 7. Opção **check density**.

- Pressionar a tecla ↵ do teclado vertical;
- Preencher o volume interno de uma seringa limpa de 20 mL de capacidade com água deionizada destilada purificada por equipamento Milli-Q® ou equivalente, tomando-se o cuidado de remover qualquer bolha de ar presente;
- Acoplar a seringa ao orifício de alimentação do tubo em “U” oscilante, conforme Figura 8;
- Pressionando-se o êmbolo da seringa, inserir a água deionizada destilada padrão de densidade no equipamento, certificando-se de que o excesso seja conduzido ao esgoto eliminando qualquer bolha presente no tubo em “U”. Não retirar a seringa;

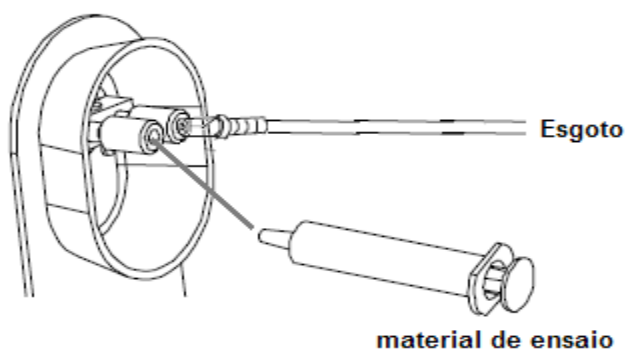


Figura 8. Alimentação do equipamento com material de ensaio.

- Por meio do teclado vertical pressionar a tecla sob a opção **Ok**;
- Aguardar equilíbrio de temperatura, leitura da densidade da água e avaliação automática de conformidade ou não conformidade, de acordo com configurações pré-estabelecidas pelo Setor e gravadas no software do equipamento;

- Aguardar que o equilíbrio térmico seja atingido e a densidade da amostra seja medida, o que é observado por meio de um sinal sonoro emitido pelo equipamento e pela intermitência do resultado obtido na tela do equipamento;
- Para realizar uma medição de densidade em outro material de ensaio de mesma natureza, realizar o preenchimento do tubo em “U” oscilante com o novo material, conforme descrito anteriormente, tomando-se as mesmas precauções de sua ambientação com o novo material de ensaio. Clicar por meio do teclado vertical na opção **Cont** presente na tela do equipamento;
- Se o material de ensaio seguinte for de natureza diferente do anterior, realizar procedimento de limpeza entre as medições de densidade deles

Procedimento de limpeza do tubo em U oscilante

- Estando o resultado da última leitura de densidade de material de ensaio presente na tela do equipamento, por meio do teclado vertical clicar na opção **Esc**;
- Clicar por meio do teclado vertical na opção **Method** presente na tela;
- Selecionar o método **Blanck method**;
- Pressionar a tecla ↵ do teclado vertical;
- Aguardar que o método seja carregado pelo software do equipamento;
- Preencher o volume interno de uma seringa limpa de 20 mL de capacidade com água deionizada destilada;
- Acoplar a seringa ao orifício de alimentação do tubo em “U” oscilante, conforme Figura 8;
- Pressionando-se o êmbolo da seringa, inserir a água deionizada destilada no equipamento, certificando-se de que o excesso seja conduzido ao esgoto e que a água empurre o máximo de resíduo de material de ensaio;
- Repetir a operação de lavagem com água deionizada destilada até assegurar-se de que visualmente o material de ensaio tenha sido escoado do equipamento;
- Remover a seringa;
- Preencher o volume interno de uma seringa limpa de 20 mL de capacidade com uma solução de detergente neutro diluído na proporção de 50% v/v em água;
- Acoplar a seringa ao orifício de alimentação do tubo em “U” oscilante, conforme Figura 8;
- Pressionando-se o êmbolo da seringa, inserir a solução detergente no equipamento, certificando-se de que o excesso seja conduzido ao esgoto;
- Repetir a operação de injeção de solução de detergente 50% v/v de modo que no mínimo 60 mL da solução tenham percorrido o interior do tubo em “U”. Não remover a seringa;
- Aguardar que a solução detergente atue por 5 (cinco) minutos para remover resíduos do material de ensaio;
- Remover a seringa;
- Realizar purga da solução detergente por meio da alimentação do tubo em “U” com no mínimo 60 mL de água deionizada destilada, empregando-se uma seringa de 20 mL de capacidade;
- Preencher com ar o volume interno da seringa utilizada com água deionizada destilada;

- Acoplar a seringa ao orifício de alimentação do tubo em “U” oscilante, conforme Figura 8;
- Pressionando-se o êmbolo da seringa, inserir ar no equipamento, direcionando ao esgoto a água deionizada destilada residual no tubo em “U”;
- Remover a seringa;
- Preencher o volume interno de uma seringa limpa de 20 mL de capacidade com álcool etílico absoluto de grau de pureza P.A.;
- Acoplar a seringa ao orifício de alimentação do tubo em “U” oscilante, conforme Figura 8;
- Pressionando-se o êmbolo da seringa, inserir o álcool etílico no tubo em “U” do equipamento, certificando-se de que o excesso seja conduzido ao esgoto;
- Repetir a operação de injeção de álcool etílico de modo que no mínimo 60 mL tenham percorrido o interior do tubo em “U”;
- Remover a seringa preenchê-la com ar e injetar no orifício de alimentação do tubo em “U”, carreando ao esgoto o excesso de álcool etílico. Remover a seringa;
- Remover a mangueira de purga do tubo em “U” cuja extremidade oposta encontra-se imersa no recipiente de recolhimento do esgoto;
- Conectar a mangueira de ar seco oriunda da abertura **AIR OUT** presente na face lateral direita do equipamento à purga do tubo em “U”, conforme Figura 10;

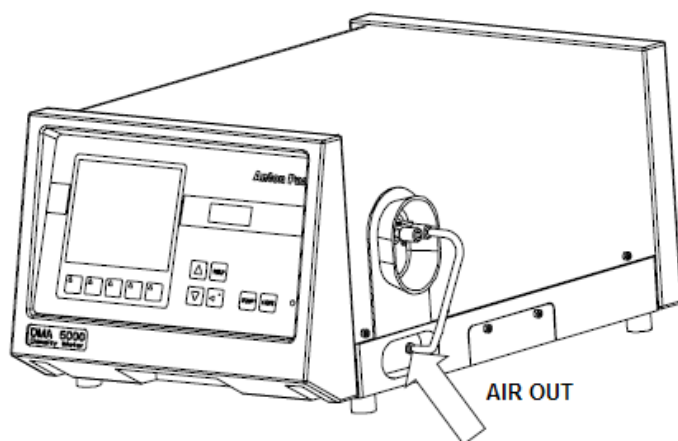


Figura 10. Conexão do ar da bomba para secagem do tubo em “U”.

- Por meio do teclado vertical existente na face dianteira do equipamento, pressionar a tecla que apresenta impressa o termo PUMP;
- Aguardar que a bomba insufla ar seco, deixar aproximadamente 10 minutos;
- Desligar o equipamento por meio do botão liga-desliga existente na face traseira do equipamento;
- Tampar a entrada de ar do cartucho de sílica dessecante que seca o ar direcionado à bomba;
- Garantir que a mangueira de ar da bomba seja desconectada do orifício de purga do tubo em “U”;
- Retirar a tomada do equipamento da fonte de energia de alimentação;
- Descartar o material contido no esgoto e lavar o recipiente.

Anexo 3 - Experimento para avaliação de interferência da quantidade de nitrogênio contida no comprimido de bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol), na análise de proteína bruta pelo método kjeldahl

Para análise da possível interferência de nitrogênio contida no comprimido de bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol), na proteína bruta pelo método Kjeldahl foi realizado um experimento para quantificar o nitrogênio contido nos comprimidos. Os comprimidos de bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol) foram pesados de acordo com a Instrução Normativa Nº 68/2006 para análise de leite em pó (Brasil, 2006). A análise foi realizada em triplicata, sendo que em uma das amostras não houve a adição do comprimido de bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol). Esta amostra foi chamada de branco e serviu como referência.

Tabela 1. Avaliação da interferência do nitrogênio contido no comprimido de bronopol, na análise de proteína bruta pelo método kjeldahl

% m/m PTN Leite/teor mínimo e máximo esperado	Volume de leite	Massa média do comprimido	% PTN no comprimido	Massa de PTN no comprimido	Densidade do leite	Massa de leite estimada pela densidade	Quantid. PTN (g) em 40 mL leite	Massa comprimido + Leite	Massa PTN Comprimido + PTN Leite	% PTN final
2,2	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	0,90728	41,2522	0,908343	2,202
2,3	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	0,94852	41,2522	0,949583	2,302
2,4	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	0,98976	41,2522	0,990823	2,402
2,5	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,031	41,2522	1,032063	2,502
2,6	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,07224	41,2522	1,073303	2,602
2,7	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,11348	41,2522	1,114543	2,702
2,8	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,15472	41,2522	1,155783	2,802
2,9	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,19596	41,2522	1,197023	2,902
3	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,2372	41,2522	1,238263	3,002
3,1	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,27844	41,2522	1,279503	3,102
3,2	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,31968	41,2522	1,320743	3,202
3,3	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,36092	41,2522	1,361983	3,302
3,4	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,40216	41,2522	1,403223	3,402
3,5	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,4434	41,2522	1,444463	3,502
3,6	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,48464	41,2522	1,485703	3,602
3,7	40	0,0122	8,7093	0,001063	1,031	41,2400	1,52588	41,2522	1,526943	3,701

Não houve interferência significativa conforme mostra a tabela acima. A porcentagem de proteína do teor mínimo e máximo do leite esperado não foi diferente da porcentagem da proteína final.