

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA

KAMILA NUNES MAIA

**QUALIDADE DO LEITE: UMA REVISÃO SOBRE OS MÉTODOS ANALÍTICOS  
EMPREGADOS E TENDÊNCIAS**

Uberlândia-MG

2023

KAMILA NUNES MAIA

**QUALIDADE DO LEITE: UMA REVISÃO SOBRE OS MÉTODOS  
ANALÍTICOS EMPREGADOS E TENDÊNCIAS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Instituto de Química da  
Universidade Federal de Uberlândia  
como requisito parcial para obtenção do  
título de bacharel em Química Industrial

Orientador: Dr. Rodrigo Alejandro  
Abraza Muñoz

Uberlândia

2023

Dedico este trabalho à minha família e ao meu amigo,  
Guilherme de Abreu (in memoriam).

## RESUMO

Há evidências históricas que o leite bovino é consumido por humanos desde 3.000 a.C. É uma substância quimicamente classificada como coloide, uma mistura heterogênea entre água, proteínas, gorduras e sais minerais além de enzimas e carboidratos. É amplamente consumido em todo mundo, seja pelos seus produtos e derivados, ou através de alimentos industrializados, que utilizam alguma propriedade físico-química do leite na sua fabricação. O mundo produz aproximadamente 800 toneladas de leite por ano, o Brasil é o quarto país no ranking de produção, e consome por volta de 160 kg per capita, tornando o leite uma importante commodities para a economia nacional. Em 2020 o faturamento do leite foi por volta de R\$780 bilhões. Portanto, normativas e legislações que garantam a produção de qualidade e a segurança alimentar são necessárias. O uso de medicamentos nos animais produtores de leite e a busca por maiores rendimentos financeiros provocam uma série de estratégias fraudulentas no mercado de laticínios, ações criminosas que além de prejudicar a qualidade do produto, podem causar malefícios a saúde do consumidor. Nesse contexto, o controle de qualidade do leite e seus derivados deve ser realizada com técnicas que produzem resultados confiáveis. Neste trabalho revisamos as principais técnicas utilizadas no controle de qualidade do leite e as normativas que estabelecem os parâmetros aceitáveis desde a ordenha até a comercialização dos produtos. Novos métodos portáteis, de baixo custo e com respostas rápidas na identificação de medicamentos e fraudes no leite são tendências promissoras para o setor, e trabalhos recentes são abordados nessa revisão bibliográfica.

## ABSTRACT

Historical evidence indicates that bovine milk has been consumed by humans since 3000 BC. Moreover, it is chemically classified as a colloid—a heterogeneous mixture of water, proteins, fats, mineral salts, enzymes, and carbohydrates. This versatile product is widely consumed across the globe, either in its original form or as various products and derivatives. Additionally, the milk industry utilizes its physicochemical properties in the manufacture of industrialized foods.

On a global scale, milk production reaches approximately 800 tons per year. Brazil holds the fourth position in the production ranking and boasts a per capita consumption of around 160 kg, emphasizing the significant role of milk as a valuable commodity in the national economy. In fact, milk generated a revenue of BRL 780 billion in 2020. Consequently, regulations and legislation are necessary to ensure the production of high-quality milk and guarantee food safety. However, the pursuit of greater financial returns and the use of drugs in milk-producing animals have led to a series of fraudulent strategies in the dairy market. These criminal actions not only compromise the product's quality but also pose potential health risks to consumers.

Therefore, it is crucial to implement effective quality control measures for milk and its derivatives. The application of techniques that yield reliable results becomes paramount. In this work, we delve into an examination of the main techniques used in milk quality control, along with the regulations that establish acceptable parameters throughout the entire process—from milking to product marketing. Furthermore, we explore recent developments in the field, particularly the promising trends of new portable, low-cost, and quick-response methods for identifying drugs and detecting fraud in milk. These advancements are covered comprehensively in this bibliographic review.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Homem ordenhando uma vaca. Pintura de parede de Saqara, Egito, 2.350 aC. ....	10
<b>Figura 2.</b> Teste CMT para o diagnóstico de mastite subclínica. ....	15
<b>Figura 3.</b> Fluxograma do leite entre a ordenha e o comércio do leite. Modificado (SILVA, Gilvan et al., 2012). ....	16
<b>Figura 4.</b> Tubos de ensaio com após o teste do alizarol. (SANTOS SILVA, 2013). ....	18
<b>Figura 5.</b> Crioscópio eletrônico. ....	20
<b>Figura 6.</b> MilkoScan. Equipamento de infravermelho utilizado para para determinar quantidade de gordura, proteína, lactose, sólidos não gordurosos (SNG) e outras propriedades do leite. ....	21
<b>Figura 7.</b> Butirometro de Gerber. ....	22
<b>Figura 8.</b> Equipamento Kjeltex <sup>TM</sup> . Utilizado para a determinação do teor de proteínas. ....	25
<b>Figura 9.</b> Teste colorimétrico de guaiacol para a detecção da presença de peróxido de hidrogênio no leite. A esquerda o controle negativo, e a direita uma amostra contaminada com peróxido. ....	29
<b>Figura 10.</b> Espectrofluorímetro que identifica a presença de antibiótico por imunodeteção . O equipamento se baseia na interação entre anticorpos e antígenos específicos para identificar a presença de resíduos de antibióticos em amostras de leite. ....	31

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Interpretação de resultados de valores de pH e da acidez do leite por meio da titulação com solução alcoólica de alizarina a 2% e Processo Dornic. Modificado (Brito, M.A. et al, 2021) .....	19
<b>Tabela 2.</b> Tipo de produto e seu respectivo teor de gordura após a padronização do leite. Modificado (TACO, 2019).....	26
<b>Tabela 3.</b> Principais diferenças e aplicações dos tratamentos térmicos utilizados na indústria de leite. Modificado (SILVA, Gilvan et al., 2012). ....	28
<b>Tabela 4.</b> Principais contaminantes e adulterantes do leite e suas respectivas concentrações permitidas de acordo com órgãos de regulamentação .....	32

**LISTA DE EQUAÇÕES**

Equação (1) .....	22
Equação (2).....	23
Equação (3) .....	23
Equação (4) .....	24
Equação (5) .....	24
Equação (6) .....	24

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>10</b>
<b>1.2 A importância do leite no mercado alimentício</b>	<b>11</b>
<b>1.3 Obtenção e comercialização do leite</b>	<b>12</b>
<b>2. PARÂMETROS DE CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE</b>	<b>14</b>
<b>a. pH e Acidez Dornic</b>	17
<b>b. Densidade e índice crioscópico</b>	19
<b>c. Estrato Seco Total e Desengordurado</b>	21
<b>d. Teor de gorduras e proteínas</b>	21
<b>3. PADRONIZAÇÃO DO LEITE</b>	<b>25</b>
<b>4. TRATAMENTO TÉRMICO</b>	<b>26</b>
<b>5. ADULTERANTES E CONTAMINANTES DO LEITE</b>	<b>28</b>
<b>6. LEGISLAÇÃO</b>	<b>33</b>
<b>7. TENDÊNCIAS</b>	<b>34</b>
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>35</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>37</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O leite bovino é uma fonte milenar de proteínas, vitaminas e minerais. Existem evidências que o leite cru é consumido no Ocidente europeu há aproximadamente 10 mil anos e o queijo pelos egípcios desde 2.000 anos antes de Cristo (Figura 1). No entanto, a Revolução Industrial permitiu a produção em grande escala de leite e seus derivados, favorecendo o crescimento mundial constante de produtos lácteos ao longo do século XX (MCCORMICK, 2012; VENQUIARUTO; ROGÉRIO; DALLAGO,2018).

**Figura 1.** Homem ordenhando uma vaca. Pintura de parede de Saqara, Egito, 2.350 aC.



Todos os dias bilhões de pessoas consomem leite e/ou seus diversos derivados. O leite é uma commodities agropecuária importante, de acordo com a Research and Markets, em 2019 o mercado global do leite foi avaliado em mais de US\$ 640 bilhões e com expectativa de crescimento de mais de 3% ao ano até 2025 (MORDOR INTELLIGENCE, 2020).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*) informou que a produção mundial de leite em 2021 foi de aproximadamente 850 milhões de toneladas e Estados Unidos, Índia, China e Brasil são os países que lideram o *ranking* de maiores

produtores do mundo. Já os maiores consumidores de leite e derivados foram a Finlândia, Suécia e Dinamarca, com consumo médio de mais de 300 kg de leite per capita por ano, enquanto países da Ásia e África tem consumos médios abaixo de 100 kg por ano (FAO, 2021, p. 24). No Brasil, o consumo médio de leite em 2020 foi de 160 kg per capita de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). O consumo de leite está relacionado diretamente com as complexidades econômicas, políticas e culturais em diferentes países, resultando em diferentes padrões de consumo (IBGE, 2021).

Além da importância econômica, o leite é um alimento complexo e rico em micro e macronutrientes essenciais para a nutrição humana (como por exemplo: proteínas de alta qualidade, cálcio, magnésio, selênio, vitaminas B12 e B5, riboflavina e carboidratos). As fontes de proteínas, vitamina D e cálcio mais baratas no Brasil são oriundas de leites e seus derivados (Ministério da Saúde, 2014, p. 12).

## **1.2 A importância do leite no mercado alimentício**

O mercado de alimentos é uma indústria em contínuo crescimento, e o leite desempenha um papel fundamental como ingrediente em uma ampla gama de produtos alimentícios. Sua versatilidade, propriedades funcionais e alto valor nutricional o tornam essencial. (MORGAN, 2018).

A demanda de consumidores em busca de alimentos saudáveis e nutritivos tem impulsionado o mercado de alimentos industrializados fortificados e funcionais, com conteúdo nutricional diferenciado, “ricos” ou “fontes” de vitaminas e minerais, e em sua grande maioria são alimentos lácteos (aproximadamente 60%). Leites fermentados, iogurtes e bebidas lácteas acrescidos de vitaminas, minerais e fontes probióticas são integrantes da alimentação de jovens e crianças com a justificativa de contribuir para a

saúde e bem-estar de seus consumidores, segundo a indústria e comércio de alimentos (QUEIROGA, 2017).

Além de ser usado como ingrediente em diversas formulações, o leite bovino possui proteínas que devido as suas funções, como: solubilidade, dispersividade, retenção de gordura, retenção de água, emulsificação, viscosidade, gelificação, formação de filmes entre outras, são amplamente utilizadas para melhorar a aparência e as propriedades sensoriais de diversos alimentos industrializados, como por exemplo as caseínas e caseinatos de sódio e cálcio que são incluídos em produtos cárneos, produtos de panificação, chocolates, coberturas comestíveis, bebidas lácteas e achocolatadas, cremes para café, salgadinhos e “snacks” (COSTA et al, 2018; ALIBRA INGREDIENTES LTDA., 2016).

Portanto, a ampla utilização do leite bovino e seus derivados contribuem diretamente com o mercado alimentício. A Euromonitor International divulgou em 2020 que o mercado mundial de alimentos atingiu valores superiores a 8 trilhões de dólares, e o mercado brasileiro teve faturamento aproximado de R\$ 780,0 bilhões em 2020, dentre eles, os produtos laticínios tem uma participação de mais de 5% em todo o faturamento, segundo a Associação Brasileira da Indústria de Alimentos (ABIA).

### **1.3 Obtenção e comercialização do leite**

Desde o período de colonização até o início do século XX, o leite no Brasil era comercializado e consumido sem nenhum tipo de tratamento. Porém, a partir da década de 20 algumas indústrias de beneficiamento começaram a oferecer processo de pasteurização lenta e distribuir o leite em frascos de vidro. No entanto, somente no final da década de 30 o governo de São Paulo decretou que todo leite distribuído à população deveria ser pasteurizado, e definiu os tipos de pasteurização. Em 1952, as determinações

estaduais se estenderam para todo o país por meio do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (FONTES,2011; ALVES, 2017).

Atualmente o Ministério da Agricultura determina que “leite é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta e em boas condições de higiene, de vacas saudas, bem alimentadas e descansadas”. O manejo e a ordenha dos animais precisam ser realizados de maneira que haja menor contaminação física, química e microbiológica para que se tenha um leite de qualidade (MAPA, BRASIL, 2018, p. 17).

A contaminação do leite está diretamente ligada com o local de confinamento dos animais antes e após a ordenha; a qualidade do leite cru depende do manejo, alimentação, saúde e a genética dos animais, e o processo de armazenamento do leite influencia na qualidade microbiológica (BEZERRA, et. al, 2013).

Portanto, a segurança alimentar e a rentabilidade dos produtores são diretamente dependentes de procedimentos de higienização, resfriamento e controle sanitário no processo de obtenção do leite. Deste modo, no local de produção do leite não deve haver substâncias nocivas, o leite deve ser protegido de excrementos, secreções ou resíduos dos animais, e a qualidade da água de abastecimento deve ser monitorada periodicamente. Além disso, deve haver um controle rigoroso contra pragas, feito por meio de agentes químicos manuseados por pessoas qualificadas (BEZERRA, et. al, 2013; ANVISA, 2004).

Cooperativas, produtores rurais e laticínios são responsáveis pela comercialização e distribuição do leite. Porém, para que o produto chegue até os consumidores finais é preciso que esteja dentro de normas estabelecidas pela legislação brasileira. O controle de qualidade do leite, o registro dos estabelecimentos e o cumprimento de requisitos de higiene e sanitização são fundamentais para a segurança

alimentar do consumidor (MAPA. BRASIL, IN76, 2018). Portanto, a obtenção e comercialização do leite envolve diversos cuidados e testes de qualidade.

## **2. PARÂMETROS DE CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE**

A saúde dos animais também influencia diretamente na qualidade do leite. As glândulas mamárias das vacas podem passar por processos inflamatórios causados por traumas físicos ou por infecções de microrganismos, como por exemplo, coliformes, estreptococos, enterococos e fungos. Essa enfermidade é conhecida como mastite e pode ocasionar um aumento significativo de células somáticas no leite, comprometendo de maneira irreversível a qualidade do produto, e deve ser diagnosticada antes da ordenha nos primeiros jatos de leite (Silva & Souza, 2019).

A mastite pode ser diagnosticada pelo aspecto físico do ubre do animal, que quando acometido pela enfermidade apresenta edema, aumento da temperatura e presença de nódulos, porém, a mastite subclínica só pode ser diagnosticada por meio de testes e/ou exames (PRADO et al., 2015). O teste de CMT (do inglês, *California Mastitis Test*), é um teste indireto que usa um detergente aniônico capaz de romper o citoplasma e a membrana nuclear das células e um indicador de pH (púrpura de bromocresol). A interação dos ácidos nucleicos com o reagente resulta na formação de um gel, quanto maior a viscosidade maior a quantidade de células somáticas presentes no leite (Figura 2). O indicador de pH adquire coloração roxa em pH levemente alcalino, o que pode indicar inflamação da glândula do animal (SILVA et. al., 2016).

**Figura 2.** Teste CMT para o diagnóstico de mastite subclínica.



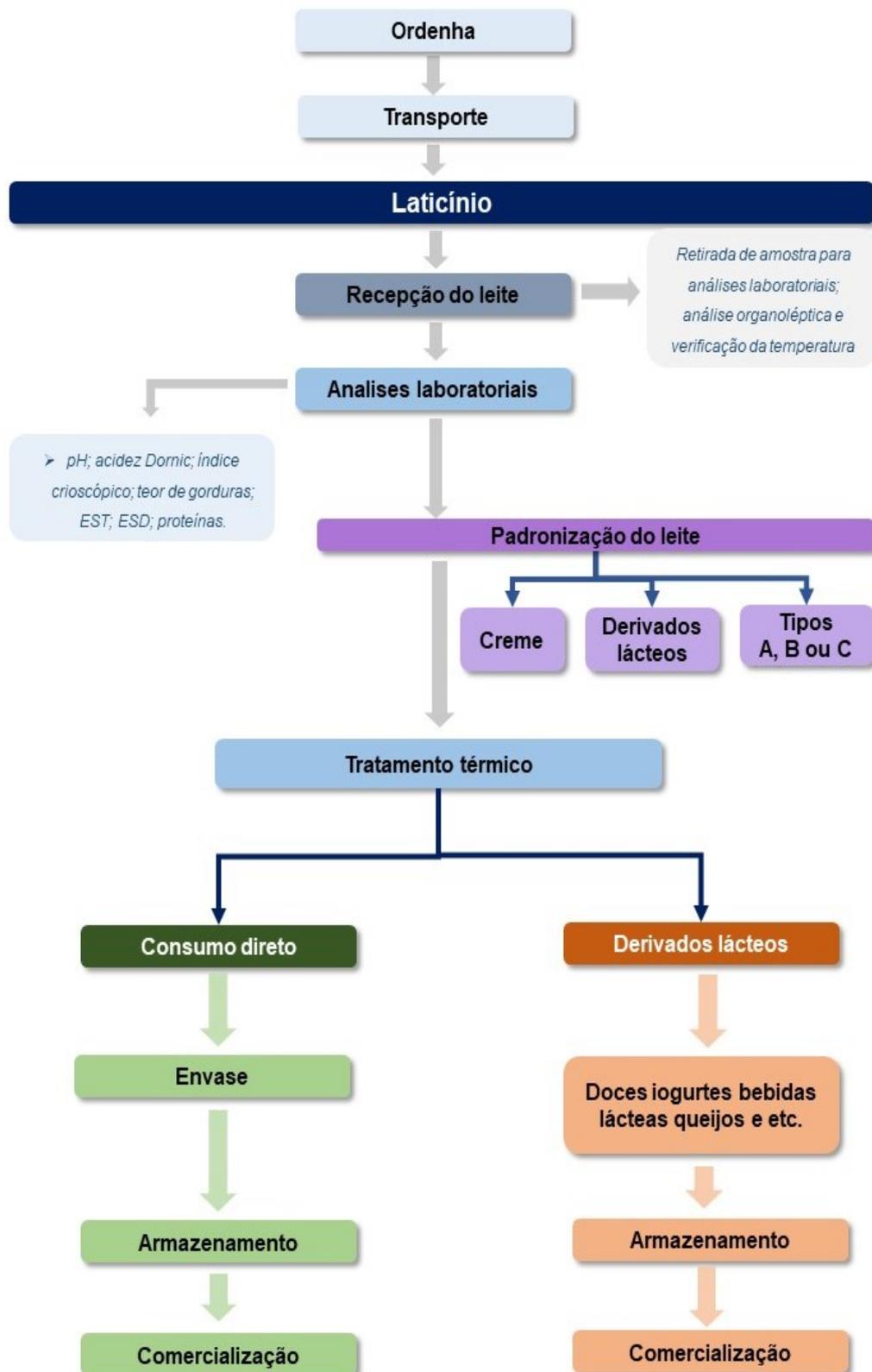
A mastite é tradicionalmente tratada com antibióticos e anti-inflamatórios, e o leite de animais acometidos com mastite em grau avançado ou em tratamento da doença deve ser descartado, e dependendo do estágio da infecção, o animal não deve ser ordenhado no mesmo local que animais saudáveis. Além disso, vacas secretam um líquido de cor amarelada durante 5 a 8 dias após o parto, esse líquido é essencial para a saúde da cria, possui alto grau de acidez e não deve ser misturado ao leite normal (PRADO et al., 2015).

Neste contexto, existem normas que regulamentam a obtenção e comercialização do leite. A Normativa 51 (IN51) traz condições e parâmetros que indicam se o leite *in natura* está sob condições adequadas para ser processado na indústria e/ou ser consumido (BRASIL, 2002 p. 13)

Após o leite ter passado pelo processo de ordenha e transporte até o laticínio, é retirada uma amostra na etapa de recepção do leite para a realização das análises laboratoriais. Dentre os primeiros testes estão: testes de acidez, densidade, cor, odor e se foi transportado na temperatura ideal (entre 7°C e 10°C). Em seguida, o leite é armazenado em local apropriado e mantido sob resfriamento segundo a IN51. O fluxograma

representado na Figura 3 mostra as etapas e processos entre a ordenha e a comercialização do leite (SILVA, Gilvan et al., 2012).

**Figura 3.** Fluxograma do leite entre a ordenha e o comércio do leite. Modificado (SILVA, Gilvan et al., 2012).



Amostras do leite armazenado também são submetidas a novas análises para identificar O pH e acidez Dornic, densidade, índice crioscópico, Extrato Seco Total (EST) Extrato Seco Desengordurado (ESD), proteína e teor de gordura.

#### **a. pH e Acidez Dornic**

Os citratos, albumina, caseína e dióxido de carbono são constituintes responsáveis pela leve acidez do leite cru e, portanto, o pH é um parâmetro importante para a qualidade do leite. A IN51 determina que o pH ideal do leite fresco é de 6,6 a 6,8. Leites provenientes de vacas com mastite apresentam pH maior que 7,5, e o leite de vacas recém paridas tem pH abaixo de 6,6 e coagula na etapa de aquecimento da pasteurização e, portanto, deve ser descartado (SILVA, Gilvan et al., 2012; SILVA, 1997).

Além disso, a lactose é consumida por microrganismos e convertida em ácido láctico, quanto maior a concentração do ácido láctico menor o pH do leite. A indústria láctea expressa a acidez do leite em graus Dornic (°D), onde 1°D corresponde a 0,1 g de ácido láctico por litro de leite (Brasil, MAPA. Instrução Normativa nº 76, 2018).

A acidez pode ser determinada por meio da titulação com solução alcoólica de alizarina a 2%, um teste qualitativo, rápido e que pode ser realizado pelo produtor e/ou no momento da recepção do leite. A alizarina é um indicador de pH que apresenta coloração amarela/marrom em pH ácido, e coloração violeta/lilás em pH alcalino, como pode ser visto na Figura 4.

**Figura 4.** Tubos de ensaio com após o teste do alizarol. (SANTOS SILVA, 2013).



O álcool presente na solução tem a função de desidratar o leite, simulando a desidratação das proteínas provocadas pelo aquecimento durante o tratamento térmico. A desestabilização das micelas de caseína pela solução alcoólica provoca coagulação do leite, e indica acidez ou desequilíbrio salino (SILVA, Gilvan et al., 2012).

Os resultados obtidos na titulação e suas respectivas interpretações estão demonstrados na Tabela 1. Porém, para que a acidez seja determinada com exatidão, a determinação é feita em laboratório, utilizando o *processo Dornic*. A acidez do leite também é importante para classificar a matéria-prima para a manufatura de produtos (EMBRAPA, BRASIL. 2010).

**Tabela 1.** Interpretação de resultados de valores de pH e da acidez do leite por meio da titulação com solução alcoólica de alizarina a 2% e Processo Dornic. Modificado (Brito, M.A. et al, 2021)

pH	Acidez Dornic (°D)	Resultado da titulação	Interpretação dos resultados
6,6 – 6,8	15 – 18	Coloração vermelho-lilás e sem coagulação	Leite normal (fresco)
6,9	< 15	Violeta sem coagulação	Leite típico alcalino: leite de vaca com mastite, leite do final da lactação, leite de retenção, leite fraudado com água
6,5 – 6,6	19 – 20	Vermelho-castanho com coagulação fina	Leite ligeiramente ácido: leite do princípio da lactação, leite com colostro, leite em início de processo de fermentação
6,4	± 20	Amarelo coagulado	Leite que não resiste ao aquecimento a 110°C
6,3	22	Amarelo coagulado	Leite que não resiste ao aquecimento a 100°C
6,1	24	Amarelo coagulado	Leite que não resiste a pasteurização a 72°C
5,2	55 – 60	Amarelo coagulado	Leite que começa a flocular à temperatura ambiente
6,5	9 – 13	Amarelo coagulado	Soro de queijo

### **b. Densidade e índice crioscópico**

Outro parâmetro avaliado é a densidade do leite, que deve estar entre 1,023 e 1,040 a 15°C e é realizada utilizando um termolactodensímetro. A relação entre a massa (g)/volume (L) indica possíveis fraudes como a adição de água, que resulta numa diminuição da densidade, e o desnate prévio que é a retirada da gordura, componente menos denso, resultando no aumento da densidade do leite (SILVA, Gilvan et al., 2012).

O índice crioscópico também pode revelar aguagem, a fraude provoca alteração do ponto de congelamento, uma das características físicas mais constantes do leite, e pode ser detectado por um crioscópio eletrônico (Figura 5), que registra a temperatura da amostra do leite por meio de um dispositivo eletrônico enquanto ela é resfriada lentamente. O máximo aceitável pela legislação brasileira é de  $-0,512^{\circ}\text{C}$ , portanto, quando amostras apresentam pontos de congelamento que se aproximam de  $0^{\circ}\text{C}$  indicam possível adição de água (SILVA, Gilvan et al., 2012).

Figura 5. Crioscópio eletrônico



Quando a densidade do leite e o índice crioscópico estão dentro dos parâmetros, segue-se para as análises de EST e ESD para confirmar a qualidade do leite e verificar se não há outras fraudes que não puderam ser identificadas.

### c. Extrato Seco Total e Desengordurado

O Extrato Seco Total (EST) é composto por todos os componentes sólidos do leite (gordura, carboidratos, proteínas e sais minerais), e é determinado por método gravimétrico ou espectroscopia de infravermelho próximo (Figura 6).

**Figura 6.** MilkoScan. Equipamento de infravermelho utilizado para determinar quantidade de gordura, proteína, lactose, sólidos não gordurosos (SNG) e outras propriedades do leite.



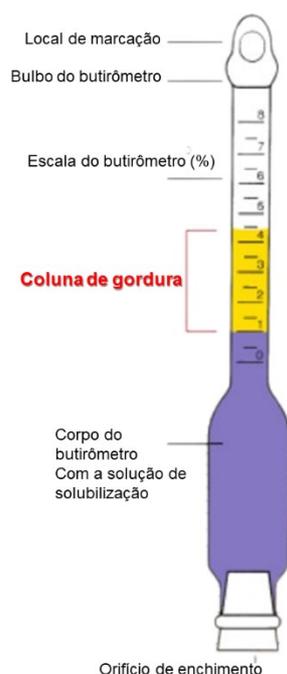
Em seguida, é feita uma relação entre a densidade e a percentagem de gordura do leite. Ao remover a gordura do EST, obtém-se o Extrato Seco Desengordurado (ESD), e de acordo com IN76 deve ser superior a 8,6 g a cada 100g de leite (SILVA, Gilvan et al., 2012).

### d. Teor de gorduras e proteínas

O teor de gorduras e proteínas são parâmetros que indicam a qualidade do leite, classificam e direcionam a matéria prima para a produção de derivados lácteos. A determinação do teor de gordura do leite é tradicionalmente feita pelo método de Gerber. O método se baseia na digestão das proteínas ligadas a gordura do leite usando ácido sulfúrico, e na extração da gordura usando álcool isoamílico, que reduz a tensão

superficial da mistura e facilita a separação da gordura presente no leite. A mistura de leite, ácido sulfúrico e álcool isoamílico é feita no butirômetro de Gerber (Figura 4), uma proveta graduada com abertura na parte inferior.

**Figura 7.** Butirometro de Gerber.



Após a adição dos reagentes, a amostra é levada a banho maria (65°C) e centrifugação (1200 a 1450 rpm), em seguida é possível visualizar as fases da mistura, e determinar o teor de gordura por meio da Equação 1 (COSTA, L. F. et al 2021; AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2004, p. 35).

Equação (1)

$$\text{Teor de gordura (\%)} = \frac{\text{Volume de gordura} \times \text{Fator de conversão}}{\text{Volume de Leite}} \times 100$$

*O fator de conversão depende do butirômetro utilizado.*

O leite bovino possui em média 3,5% de gordura, e o teor de gordura pode classificar o leite como ideal ou não para a produção de manteigas, cremes de leite, iogurtes, queijos e outros derivados (GUIMARÃES & AMARAL, 2009).

As proteínas são tradicionalmente determinadas pelo método Kjeldahl. O método é baseado na análise de nitrogênio presente na amostra e consiste em três etapas: Digestão, destilação e titulação (ISO 1871:2020).

A digestão da amostra é feita com aquecimento e ácido sulfúrico concentrado (Equação 2).

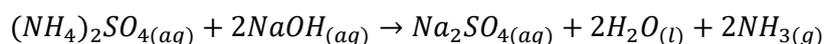
Equação (2)



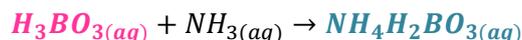
O ácido sulfúrico pode ser utilizado sozinho ou na presença de sais inorgânicos (como sal de cobre e de potássio) para evitar a vaporização do ácido em temperaturas maiores que 330°C, e conseqüentemente reduzir o tempo de digestão da amostra.

A segunda etapa, de destilação, se dá pela adição de excesso de NaOH para converter o íon amônio ( $NH_4^+$ ) em amônia ( $NH_3$ ), seguido de aquecimento e condensação do gás  $NH_3$  que é capturado por uma solução receptora de ácido bórico na presença de um indicador ácido-base e produz borato de amônio, resultando na mudança de cor da solução de rosa para azul-esverdeado. A etapa de destilação e coleta do gás amônia estão demonstradas nas Equações 3 e 4.

Equação (3)

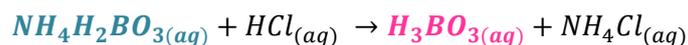


Equação (4)



Na última etapa, o borato de amônio é titulado com uma solução de ácido sulfúrico ou clorídrico até a viragem do indicador presente na solução. (Equação 5).

Equação (5)



Após a determinação de nitrogênio é possível determinar o teor de proteína presente na amostra de leite usando a Equação 6.

Equação (6)

$$[Proteína] = [nitrogênio] \times \text{fator de conversão}$$

O fator de conversão depende do alimento analisado, ele representa a proporção média de nitrogênio presente no tipo de proteína. Neste contexto, o fator de conversão do leite é de 6,38, que representa a proporção média de nitrogênio presente em proteínas do leite (ISO 1871:2020). Equipamentos que realizam o método Kjeldahl de forma totalmente automatizada são amplamente utilizados em laticínios, como por exemplo o equipamento Kjeltec (Figura X). O equipamento possui um bloco de digestão que utiliza ácido sulfúrico com catalizadores (geralmente óxido de cobre) para conseguir chegar em altas temperaturas e diminuir o tempo de análise, além de um destilador e um titulador, possibilitando a determinação do teor de proteína de forma totalmente automatizada.

**Figura 8.** Equipamento Kjeltec™. Utilizado para a determinação do teor de proteínas.



### **3. PADRONIZAÇÃO DO LEITE**

A padronização do leite é necessária para a obtenção do teor de gordura específico, e assim poder ser destinada a produção de derivados de acordo com a sua classificação. O teor de gordura é um parâmetro essencial para a padronização do leite, a IN51 estabelece que o percentual mínimo aceitável de gordura do leite é de 3%. A padronização pode ser feita por meio da centrifugação do leite, que é capaz de separar a parte sólida da líquida. A parte sólida ou creme separado determina o teor de gordura do leite resultante e em seguida as frações separadas dão origem aos derivados lácteos. A tabela 2 mostra os produtos e derivados lácteos e seus respectivos teores de gordura (TACO, 2019).

**Tabela 2.** Tipo de produto e seu respectivo teor de gordura após a padronização do leite. Modificado (TACO, 2019).

<b>Leite Pasteurizado</b>		
<b>Tipo A, B ou C</b>	<b>Produtos</b>	<b>Gordura (%)</b>
	Leite padronizado	3,0
	semidesnatado	0,6-2,9
	desnatado	0,5
<b>Derivados</b>	Queijos	0,5 - 2,0
	Iogurte desnatado	0,5
	Leite em pó integral	26 - 28
	Doce de leite	1,5
<b>Creme</b>		
<b>Produtos</b>	<b>Gordura (%)</b>	
Manteiga	80 - 90	
Sorvete	8,0 - 12	
Creme de Leite	17,0 - 20	

A padronização do leite tem como objetivo principal garantir a obtenção de um produto com composição química precisa, que atenda aos requisitos necessários para a produção de produtos lácteos em conformidade com as normas legais (SILVA, Gilvan et al., 2012).

#### 4. TRATAMENTO TÉRMICO

A qualidade e a segurança do leite para o consumo dependem da temperatura de armazenamento, transporte e de estratégias que utilizam a variação de temperatura para reduzir ou eliminar micro-organismos patogênicos, além de aumentar a vida útil do leite e consequentemente minimizar os riscos de transmissão de doenças por meio do alimento.

Um método de tratamento térmico amplamente utilizado é o método de Pasteurização, cujo conceito é:

Entende-se por pasteurização o emprego conveniente do calor, com o fim de destruir totalmente a flora microbiana patogênica sem alteração sensível da constituição física e do equilíbrio do leite, sem prejuízos dos seus elementos bioquímicos, assim como de suas propriedades organolépticas normais (Art. 517 do RIISPOA/MAPA, 1952).

Neste contexto, existem dois procedimentos para a pasteurização do leite. A pasteurização lenta (LTH, do inglês, *low temperature holding*), consiste no aquecimento do leite à temperatura de 62°C a 65°C por 30 minutos, e a pasteurização rápida (HTST, do inglês, *high temperature short time*), onde o aquecimento do leite é feito em fluxo contínuo em temperaturas entre 72 a 75°C durante 15 a 20 segundos.

Ambos os processos de pasteurização são eficientes para a eliminação de microrganismos patogênicos (como, *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, vírus da hepatite A, levedura *Candida albicans*), porém, as bactérias termoresistentes, como as produtoras de esporos (*Mycobacterium tuberculosis* e algumas cepas de *Coxiella burnetii*) só são eliminadas com o processo de esterilização (JAY et al., 2005).

De acordo com o MAPA (Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento), a esterilização é definida como:

Entende-se por leite UAT ou UHT (Ultra Alta Temperatura ou *Ultra Higt Temperature*) o leite homogeneizado submetido durante 2 a 4 segundos a uma temperatura entre 1300 e 1500 °C, mediante processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 320 °C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas. (Brasil, 1997).

A esterilização comercial não garante a total ausência de microrganismos no produto, porém, assegura que os microrganismos que possam ter sobrevivido às altas temperaturas do processo sejam incapazes de sobreviver nas condições anaeróbicas do envase do leite. Dessa forma, esses microrganismos não representam uma ameaça à qualidade do produto.

**Tabela 3.** Principais diferenças e aplicações dos tratamentos térmicos utilizados na indústria de leite. Modificado (SILVA, Gilvan et al., 2012).

Característica	Pasteurização		Esterilização
	Lenta	Rápida	
Aplicação	Principalmente em pequenos laticínios	Ideal para indústrias com alta produção de leite	Indústrias de grande porte
Alterações organolépticas	Baixa	Média	Elevada
Eficiência na redução de microrganismos	95%	99,5%	99,9%
Perda nutricional	Baixa	Média	Elevada

Neste cenário, o leite para o consumo direto tem prazos de validade e necessidade de armazenamento refrigerado de acordo com o processo de tratamento térmico que foi submetido. O leite envazado em embalagens *longa vida* (leite em caixinhas) são produtos submetidos a esterilização UHT, e conseqüentemente podem ser estocados em locais com temperatura ambiente e tem tempo de validade entre 6 e 9 meses. O leite pasteurizado pelo processo LTH deve ser armazenado em local refrigerado e consumido entre 3 e 5 dias, enquanto o leite pasteurizado pelo processo HTST pode ser consumido entre 7 a 10 dias, e também necessita de armazenamento em local refrigerado (BRASIL, 2006; BRASIL, 2011).

## 5. ADULTERANTES E CONTAMINANTES DO LEITE

As adulterações e fraudes na indústria de laticínios pode acarretar prejuízos, como a diminuição do rendimento de produtos lácteos, perda de valor nutricional, deterioração dos produtos beneficiados, além do risco a saúde dos consumidores. A presença de agentes antimicrobianos, neutralizantes de acidez, adulterantes do teor de proteína e reconstituíntes de densidade são utilizados para contornar os testes de qualidade do leite

e fraudar o valor nutricional. Esses agentes químicos podem causar danos à saúde como: alergias, irritações gastrointestinais, obstrução do trato urinário, náuseas, vômitos, alterações neurológicas entre outros danos (ZHU, L. et al.; XIAO, Y. et al).

Dentre os adulterantes, além da adição de água para aumentar o volume do leite, o amido de milho pode ser utilizado para contornar o teste de densidade e não revelar a aguagem. O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é um agente oxidante comumente adicionado para dificultar a análise de deterioração do leite e prologar a vida útil do produto. Porém, o  $H_2O_2$  ao ser adicionado ao leite, reage com a enzima peroxidase e produz compostos oxidados que afetam a qualidade nutricional do produto, e pode ser detectado em um teste colorimétrico com guaiacol (Figura 8).

**Figura 9.** Teste colorimétrico de guaiacol para a detecção da presença de peróxido de hidrogênio no leite. A esquerda o controle negativo, e a direita uma amostra contaminada com peróxido



Além disso, durante o tratamento térmico o peróxido de hidrogênio pode ser convertido a radicais livres e causar efeitos tóxicos ao organismo humano (PAGAN, J. D, 1989). Outra prática fraudulenta na indústria do leite é a adição de melanina, substância química de baixo custo, que tem a capacidade de se ligar a proteína do leite, fraudando a concentração proteica do produto e gerando mais lucros para a indústria de laticínios. No entanto, a melanina pode causar sérios problemas de saúde, como: ocasionar a formação

de pedras nos rins e causar danos no sistema urinário, e até levar a falência renal (ABRANTES, et. Al., 201).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece que não é permitido a comercialização de leite quando oriundo de animais que estejam sob o tratamento com drogas e medicamentos, de forma a garantir que os resíduos da droga não estejam em concentrações superiores as estabelecidas em normas específicas. Portanto, a presença de produtos químicos, como sanitizantes, agrotóxicos e, principalmente, antibióticos em alimentos de origem animal, é proibido e representa risco a saúde do consumidor (SCHLEMPER; SACHET, 2017).

Neste contexto, medicamentos como a flunixinina, anti-inflamatório usado para tratar dor, inflamação e febre de equinos e bovinos, é um contaminante frequentemente encontrado em amostras de leite, e pode causar danos no fígado, nos rins e no sistema gastrointestinal e infringe normas estabelecidas pelo MAPA, como a I62. (KISSELL et al., 2013; LOBATO, et. Al., 2014; BRASIL, 2011).

Portanto, para garantir a segurança alimentar do consumidor, as amostras de leite devem ser submetidas a testes para a determinação de contaminantes, principalmente antibióticos. A IN76 e 77 exigem que sejam feitos estudos para identificar quais os grupos de antibióticos de maior incidência são determinados em bacias leiteiras.

Dentre os métodos existentes para a determinação destes contaminantes, os métodos de inibição microbiológica, métodos enzimáticos e métodos imunológicos são utilizados, além de técnicas analíticas de análise, como, cromatografia gasosa, cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta pressão. Também existem kits comerciais, e equipamentos de fluorescência, relativamente baratos e de fácil realização, que possibilitam a determinação de antimicrobianos presentes em várias amostras de leite ao mesmo tempo (Figura 9).

**Figura 10.** Espectrofluorímetro que identifica a presença de antibiótico por imunodeteção. O equipamento se baseia na interação entre anticorpos e antígenos específicos para identificar a presença de resíduos de antibióticos em amostras de leite.



Órgãos brasileiros estipulam as concentrações máximas permitidas de contaminantes e adulterantes, como também quais os métodos oficiais de análise para a determinação dessas substâncias. Agentes químicos como Melamina, inibidores de acidez e outros não possuem concentrações máximas permitidas, pois a presença desses agentes, mesmo em pequenas concentrações indicam adulteração e fraude. A Tabela 4 mostra as principais classes de adulterantes e contaminantes, seus respectivos métodos oficiais de análise, além da concentração máxima permitida e locais que já identificaram contaminações e adulterações com a respectiva espécie.

**Tabela 4.** Principais contaminantes e adulterantes do leite e suas respectivas concentrações permitidas de acordo com órgãos de regulamentação

	Substância química	Concentração limite estabelecida por legislação	Método de análise estabelecido por legislação	Caso reportado na sociedade
Adulterantes	Peroxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	0,02%	Titulação iodométrica	Rio Grande do Sul, Brasil, 2013
	Melamina (1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine)	Não é permitida	Cromatografia Líquida Cromatografia Gasosa	China, 2008
	Inibidores de acidez (ác. Bórico e formaldeído)	Não é permitido	teste do Bacillus stearothermophilus	N/C
Contaminantes	Antibióticos	Ampicilina: 4 µg/kg Cloxacilina: 5 µg/kg Penicilina G: 4 µg/kg Cefalosporina: 100 µg/kg Tetraciclina: 100 µg/kg Estreptomicina: 100 µg/kg	microbiológicos, como o teste Delvotest®, métodos baseados em técnicas de imunensaio, como o teste Charm II®	Rio Grande do Norte, Brasil, 2017
	Hormônios	Não é permitida	Cromatografia Líquida	N/C
	Micotoxinas	0,5 a 5,0 µg/kg	Cromatografia Líquida	Brasil, Portugal, Irã, África do Sul
	Metais pesados	Pb: 0,01 mg/kg Cd: 0,05 mg/kg Hg: 0,003 mg/kg As: 0,05 mg/kg	espectrometria de absorção atômica com chama	Pernambuco, Brasil, 2014
	Pesticidas	Aldicarb: 0,005 mg/kg Carbendazim: 0,05 mg/kg Clorpirifós: 0,01 mg/kg Endosulfan: 0,05 mg/kg Heptacloro: 0,01 mg/kg Lindano: 0,02 mg/kg Metamidofós: 0,02 mg/kg Metomil: 0,05 mg/kg Parationa metílica: 0,02 mg/kg Tiodicarbe: 0,02 mg/kg	cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas	Mato Grosso, Brasil, 2003
	Resíduos de detergentes	0,025 g/100 mL	UV/Vis	N/C

## 6. LEGISLAÇÃO

No Brasil, a produção de alimentos é conduzida por legislações, normas e regulamentos de acordo com o tipo de alimento. O Ministério da Saúde (MS), Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), além da Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) são responsáveis pela fiscalização e controle da qualidade dos alimentos de origem animal.

O MAPA, por meio da Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, estabelece os padrões de identidade e qualidade para o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite tipo A, além de limites máximos de resíduos de substâncias químicas presentes no leite, como antibióticos e pesticidas, e a IN77 é a normativa que especifica as condições adequadas para a produção, transporte e controle de qualidade do leite cru. É o órgão responsável pelo registro e fiscalização de produtos de uso veterinário.

A avaliação e fiscalização da qualidade dos alimentos para consumo humano é dividida entre o MAPA e a ANVISA. A Resolução nº 387, de 4 de julho de 2002, (ANVISA), define os padrões microbiológicos para o leite cru, estabelecendo os limites máximos permitidos para a contagem de microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária.

As infrações à legislação sanitária federal acarretam sanções aplicáveis aos responsáveis pelas infrações, de acordo com a Lei 6.437, de 20 de agosto de 1977. As sanções previstas na lei vão desde advertências até multas e interdições. A Lei é uma ferramenta importante para garantir a segurança e qualidade dos alimentos comercializados no país (BRASIL, 1977).

## 7. TENDÊNCIAS

Os avanços tecnológicos têm permitido o desenvolvimento de métodos e sensores com custos cada vez mais reduzidos e com respostas rápidas ou em tempo real. Portanto, dispositivos portáteis têm sido desenvolvidos também para o monitoramento da qualidade do leite. Dentre eles, Palisoca e colaboradores desenvolveram um eletrodo a partir de grafite de ponteiros de lápis e modificaram com nanopartículas de bismuto para a determinação de metais em amostras de leite. O eletrodo fabricado se mostrou sensível e adequado para a determinação de cádmio e chumbo em amostras de leite UTH (PALISOCA *et. Al.*, 2022).

Guinati e colaboradores desenvolveram um dispositivo microfluídico fabricado em papel capaz de determinar adulterantes em amostras de leite por meio de reações colorimétricas. O dispositivo é eficiente tanto para análises qualitativas de  $H_2O_2$ , pH e ureia, onde a alteração da cor é suficiente para indicar a presença do contaminante, como também para respostas quantitativas, onde a intensidade da cor apresentada no dispositivo é proporcional a concentração, e com o auxílio de uma curva analítica a concentração do adulterante pode ser estimada (MACHADO, 2021).

Um método analítico altamente eficiente e preciso para a determinação de peróxido de hidrogênio presente no leite foi desenvolvido por Silva e colaboradores. O método se baseia em análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica. Para a realização das análises os autores utilizaram apenas 100  $\mu$ L de amostra diluída, e o método é caracterizado pela alta seletividade, sensibilidade, além de alta frequência analítica (SILVA *et al.*, 2012).

Uma abordagem baseada em análises por injeção em batelada e em injeção em fluxo (FIA) foi explorada por Faria e colaboradores para a determinação de tetraciclina, antibiótico utilizado para tratar infecções bacterianas em humanos e animais. Os autores

desenvolveram um método eletroquímico para a determinação rápida, simples e sensível de resíduos de tetraciclina em amostras de leite, independente dos teores de gordura. O sensor também se mostrou promissor para análises de qualidade de formulações farmacêuticas (FARIA *et al.*, 2019).

Um fotômetro desenvolvido com materiais de baixo custo, com respostas rápidas e de fácil execução foi desenvolvido por Fernandes e colaboradores para a determinação dos teores de proteína no leite. O método é baseado na reação colorimétrica que ocorre entre o reagente CBB-R250 e as proteínas do leite, o produto da reação apresenta coração azul, e a intensidade da coloração é proporcional a concentração de proteína na amostra. O método além de rápido, simples e de não apresentar interferes, também é um método que necessita de pequenos volumes de amostra (FERNANDES, 2019).

## **8. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Produtores e a indústria de laticínios enfrentam desafios em todos os processos relacionados a obtenção e a comercialização do leite e derivados lácteos. As doenças que podem acometer os animais, a qualidade na alimentação do gado e leiteiro até adulterações e fraudes, que podem levar a prejuízos como a redução do rendimento dos produtos lácteos, perda de valor nutricional e riscos à saúde dos consumidores, são desafios que podem ser contornados com a crescente implementação de pesquisas e novas tecnologias.

A determinação de agentes químicos, tais como agentes antimicrobianos, neutralizantes de acidez, adulterantes do teor de proteína e reconstituintes de densidade, tem sido objeto de pesquisa e desenvolvimento em métodos analíticos na área de laticínios. A aplicação da química analítica nesse contexto tem se mostrado eficaz ao

promover a criação de novos métodos que contribuem diretamente para a realização de análises de controle de qualidade do leite, com características práticas, rápidas, seletivas e, em muitos casos, com custos reduzidos e pequenos volumes de amostras e reagentes. Esses avanços têm facilitado tanto para produtores quanto para a indústria de laticínios, além de contribuir para a segurança alimentar da população.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRANTES, Maria Rociene; CAMPÊLO, Carla da Silva; SILVA, Jean Berg Alves da. Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor. *Revista de Saúde Pública*, v. 52, p. 27, 2018. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89102018000100260&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102018000100260&lng=pt&nrm=iso). Acesso em: 26 mar. 2023.
2. ALIBRA INGREDIENTES LTDA. Caseinato de cálcio e sódio e sua utilização na indústria de alimentos. *Food Ingredients Brasil*, São Paulo, nº 39, p. 46-48, 2016.
3. AY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. *Modern Food Microbiology*. 7. ed. Springer, 2005.
4. BEZERRA, M. F. et al. Qualidade do leite cru refrigerado em tanques de expansão sob a ótica dos critérios de avaliação microbiológica, físico-química e contagem de células somáticas. *Ciência Animal Brasileira*, v. 14, n. 3, p. 302-311, 2013.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre a vedação do uso de substâncias que reduzem a qualidade do leite e dá outras providências. Brasília, DF: ANVISA, 2001. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm). Acesso em: 26 mar. 2023.
6. BRASIL. Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977. Dispõe sobre as infrações à legislação sanitária federal e estabelece as sanções aplicáveis aos responsáveis. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 23 ago. 1977. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L6437.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L6437.htm). Acesso em: 26 mar. 2023.
7. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para a produção, acondicionamento, transporte e comercialização do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 27 de novembro de 2018. Seção 1, p. 17.
8. Brasil. Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, 29 dez. 2011
9. COSTA, R. G. et al. Biscoitos tipo 'cookie' e 'snack' enriquecidos, respectivamente com caseína obtida por coagulação enzimática e caseinato de sódio. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 21, e2017033, p. 1-10, set. 2018.
10. EUROMONITOR INTERNATIONAL. *Trends shaping food and nutrition in Latin America*. Chicago: Euromonitor International, 2020.
11. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/home/en/>. Acesso em: 22 mar. 2023.
12. FONTES, Paulo Roberto. *Leite e laticínios: da produção ao consumo*. São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2011

13. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO). Milk and milk products: Codex Alimentarius. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-of-standards/en/>. Acesso em: 26 mar. 2023.
14. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Pecuária Municipal 2020. Rio de Janeiro: IBGE, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9100-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=o-que-e>. Acesso em: 1 mar. 2023.
15. KISSELL, L. W.; BAYNES, R. E.; RIVIERE, J. E.; et al. Occurrence of flunixin residues in bovine milk samples from the USA. *Food Additives & Contaminants: Part A*, v. 30, n. 9, p. 1513- 1516, 2013.
16. Linares, D. M.; Martín, M. C.; Ladero, V. Safety assessment of dairy microorganisms: *Coxiella burnetii*. *Frontiers in Microbiology*, v. 2, p. 1-12, 2011.
17. LOBATO, Cláudio Luiz Damé Sayão; DE LOS SANTOS, João Rodrigo Gil. Resíduos de antibióticos no leite: causas e impactos para a indústria e saúde pública. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 18, n. 3, p. 141-150, 2014. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/revgept/article/view/26982/16664>. Acesso em: 26 mar. 2023.
18. MACHADO, Mariana Rodrigues. Pesquisadores desenvolvem sensor que identifica adulterantes em leite. [S.l.], 05 jan. 2021. Disponível em: <https://jornal.ufg.br/n/137432-pesquisadores-desenvolvem-sensor-que-identifica-adulterantes-em-leite#:~:text=Os%20pesquisadores%20criaram%20um,de%20amido%20e%20c> aseína. Acesso em: 3 mar. 2023.
19. McCORMICK, Finbar. Cows, milk and religion: the use of dairy produce in early societies. *International Journal of Dairy Technology*, [S.l.], v. 65, n. 1, p. 1-8, Feb. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00739.x>. Acesso em: 26 mar. 2023.
20. McLauchlin, J. The development of UK standards for milk pasteurization. *International Journal of Dairy Technology*, v. 49, n. 3, p. 69-75, 1996.
21. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil. Normas e padrões para a produção e a comercialização de leite e produtos lácteos. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-lacteos/normas-e-padroes-para-a-producao-e-a-comercializacao-de-leite-e-produtos-lacteos>. Acesso em: 10 mar. 2023.
22. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº. 370, de 4 de setembro de 1997. Dispõe sobre o regulamento técnico para fí xação de identidade e qualidade e-Tec Brasil 166 do leite UHT (UAT). *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*, Brasília, n. 172, 8 set. 1997d. Seção 1.
23. MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Guia Alimentar para a População Brasileira. 2. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_alimentar\\_populacao\\_brasileira\\_2ed.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf). Acesso em: 3 mar. 2023.

24. MORDOR INTELLIGENCE. Global Milk Market - Growth, Trends and Forecasts (2020 - 2025). Hyderabad, Índia: Mordor Intelligence, 2020.
25. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E A ALIMENTAÇÃO. Relatório da FAO: O estado da segurança alimentar e nutrição no mundo 2021. Roma: FAO, 2021.
26. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO). Produção de leite com qualidade e segurança. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i3893s.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2023.
27. PAGAN, J. D. Fraudulent practices in milk and dairy products. *Journal of Food Protection*, v. 52, n. 2, p. 81-84, 1989. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-52.2.81>
28. PALISOCA, Shirley et al. Electrochemical detection of lead and cadmium in UHT-processed milk using bismuth nanoparticles/Nafion®-modified pencil graphite electrode. *Food Chemistry*, v. 365, p. 130439, 2022.
29. PARA O LEITE HTST: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, pasteurizado e tipo A, leite pasteurizado e tipo A, leite pasteurizado e tipo B, leite pasteurizado e tipo C, leite pasteurizado e tipo D e leite esterilizado. *Diário Oficial da União, Brasília, DF*, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 4.
30. PARA O LEITE LTH: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2006.
31. PARA O LEITE UHT: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite tipo UHT. *Diário Oficial da União, Brasília, DF*, 25 out. 2007. Seção 1, p. 11.
32. QUIROGA, Ana Lúcia Barbosa. Aditivos & Ingredientes na Indústria de Laticínios. *Vogler Ingredientes*, [2017]. Disponível em: [https://aditivosingredientes.com/upload\\_arquivos/201601/2016010570187001453487360.pdf](https://aditivosingredientes.com/upload_arquivos/201601/2016010570187001453487360.pdf). Acesso em: 20 fev. 2023.
33. SCHENCK, F. J.; FRIEDMAN, S. L. The effect of storage at 4 degrees C on the stability of ampicilin residues in raw milk. *Journal of the American Veterinary Association*, v. 217, n. 4, p. 541-545, 2000.
34. SCHLEMPER, V.; SACHET, A. P. Antibiotic residues in pasteurized and unpasteurized milk marketed in southwest of Paraná, Brazil. *Ciência Rural*, v. 47, n. 12, 2017.
35. Soares, V. M.; Pereira, J. O.; Martins, C. G.; Figueiredo, E. A. T. Heat resistance of Salmonella spp. in milk and dairy products. *Food Control*, v. 25, n. 2, p. 533-537, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.12.020>. Acesso em: 26 mar. 2023.
36. VENQUIARUTO, Luciana Dornelles; DALLAGO, Rogério Marcos (Orgs.). *Química das bebidas*. Erechim, RS: EdiFAPES, 2018. 1 recurso online. ISBN 978-85-7892-146-0. Disponível em: <http://www.editorafapes.com.br/ebooks/index.php>. Acesso em: 17 fev. 2023.

37. XIAO, Y. et al. Effects of melamine on mammalian physiology, metabolism and multi-organ toxicity: a comprehensive review. *Toxicology Research*, v. 5, n. 3, p. 579-612, 2016. <https://doi.org/10.1039/c5tx00411a>
38. ZHU, L. et al. Melamine contamination in food and feed: a comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 91, p. 202-211, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.019>
39. FARIA, L. V. et al. High-throughput amperometric determination of tetracycline residues in milk and quality control of pharmaceutical formulations: Flow-injection: Versus batch-injection analysis. *Analytical Methods*, v. 11, n. 41, p. 5328–5336, 2019.
40. SILVA, R. A. B. et al. Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection. *Food Chemistry*, v. 133, n. 1, p. 200–204, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.003>>.
41. FERNANDES, Gabriel Martins. Estratégias para determinação de proteínas baseadas em dispositivos de papel, dispositivos miniaturizados e impressão 3D. 2019.