

Contemporânea

Contemporary Journal

3(7): 7393-7411, 2023

ISSN: 2447-0961

Artigo

PROPOSTA DE VALIDAÇÃO DE MÉTODO ALTERNATIVO PARA DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS EM LEITE

PROPOSAL FOR VALIDATION OF AN ALTERNATIVE METHOD FOR DETERMINING LIPIDS IN MILK

DOI: 10.56083/RCV3N7-008

Recebimento do original: 23/05/2023

Aceitação para publicação: 27/06/2023

Juliano Ferreira Lima

Graduando em Farmácia

Instituição: Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

Endereço: Rodovia PR-182, Toledo – PR, CEP: 85919-899

E-mail: limajuliano.eng@gmail.com

Maria Clara Hasper de Souza

Graduanda em Farmácia

Instituição: Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

Endereço: Rodovia PR-182, Toledo – PR, CEP: 85919-899

E-mail: mari.hasperr@gmail.com

Kelly Cristina Massarolo

Doutora Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande (FURG)

Instituição: Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

Endereço: Rodovia PR-182, Toledo – PR, CEP: 85919-899

E-mail: kelly.massarolo@bpk.edu.br

Letycia Lopes Ricardo

Doutora em Química pela Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Instituição: Centro Universitário União das Américas (UniAmérica) – Campus Biopark

Endereço: Rodovia PR-182, Toledo – PR, CEP: 85919-899

E-mail: letyca.ricardo@bpk.edu.br

RESUMO: O leite é uma das commodities agropecuária mais importantes produzidas no mundo. A grande discussão sobre a produção leiteira está relacionada ao retorno financeiro aos pequenos produtores, que, muitas vezes, ficam refém da forma de remuneração ofertada pelos laticínios que



valorizam principalmente a composição do leite, como no caso do retorno baseado no teor de gordura do leite recebido. A gordura é um constituinte do leite cru refrigerado que interfere diretamente na produção de derivados, influenciando no seu rendimento e características organolépticas. Para a bonificação do produtor é necessário a quantificação desse teor de gordura e, para isso, métodos oficiais são utilizados e exigem uso de solventes orgânicos e equipamentos sofisticados. O resultado de gordura é reportado aos produtores esporadicamente pelos laticínios. Nesse sentido, o trabalho tem como objetivo esboçar proposta de validação analítica de um método alternativo para determinação quantitativa do teor de gordura do leite cru. Para isso, um método que compreende processo de resfriamento da amostra com etapas de centrifugação para quantificação do teor de forma simples e rápida será validado, conforme preconiza a RDC 166/17. Com a pesquisa, pode-se concluir que o método proposto é possível de ser validado com base nas exigências da normativa e será acessível para realização in loco pelo próprio produtor.

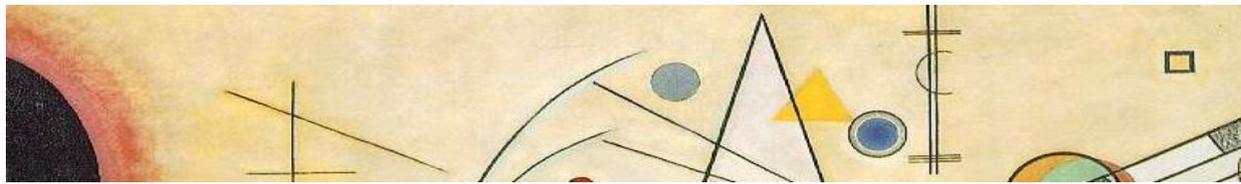
PALAVRAS-CHAVE: Desenvolvimento de Método, Validação Analítica, RDC 166/17, Teor de Gordura, Butirômetro.

ABSTRACT: Milk is one of the most important agricultural commodities produced in the world. The great discussion about dairy production is related to the financial return to small producers, who are often hostage to the form of remuneration offered by dairy products that value mainly the composition of the milk, as in the case of the return based on the fat content of the milk received. Fat is a constituent of refrigerated raw milk that directly interferes with the production of derivatives, influencing its yield and organoleptic characteristics. For the producer bonus, it is necessary to quantify this fat content and, for this, official methods are used and require the use of organic solvents and sophisticated equipment. The fat result is reported to producers sporadically by the dairy. In this sense, the objective of this work is to outline a proposal for the analytical validation of an alternative method for the quantitative determination of the fat content of raw milk. For this, a method that comprises a sample cooling process with centrifugation steps to quantify the content in a simple and fast way will be validated, as recommended by RDC 166/17. With the research, it can be concluded that the proposed method can be validated based on the requirements of the regulations and will be accessible to be carried out in the loco by the producer himself.

KEYWORDS: Method Development, Analytical Validation, RDC 166/17, Fat Content, Butyrometer.



Artigo está licenciado sob forma de uma licença
Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional.



1. Introdução

O leite é 2º segmento mais importante na indústria de alimentos e se transformou em uma das principais *commodities* agropecuárias no mundo pela sua importância nutricional para população e por ser fonte de renda para diversas famílias (SIQUEIRA, 2019).

De acordo com a Embrapa, pelo seu Anuário do Leite em 2020, houve aumento na produção mundial em 1,5% comparado a 2019, equivalente a 532,2 milhões de toneladas, tendo o Brasil um crescimento proporcional a 2,0% com relação ao mesmo ano (LEITE; STOCK; RESENDE, 2021).

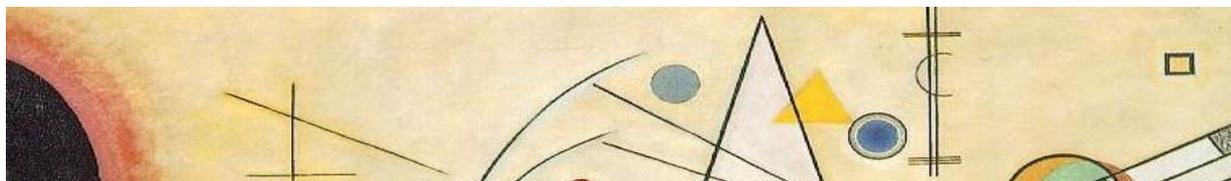
Estima-se que o consumo mundial de leite por habitante seja de aproximadamente 10 kg/mês e, em 2018, o consumo no Brasil teve aumento de quase 3% apenas para o leite UHT (SIQUEIRA, 2019b).

O Brasil tem uma das maiores produções de leite do mundo e em 2018 produziu mais de 33 bilhões de litros, sendo a região sul a principal produtora com destaque para o estado do Paraná com 4,4 bilhões de litros produzidos (SIQUEIRA, 2019; MEZZADRI, 2020).

Em 2021, o país não performou da melhor maneira, acumulando apenas 25 bilhões de litros de leite, mantendo o destaque para região sul responsável por quase 40% do volume produzido, tendo o Paraná captado 3,5 bilhões de litros (CARVALHO; ROCHA, 2022).

Apesar desse montante produzido, o preço do litro do leite no Brasil é um ponto de discussão, pois o valor máximo pago ao produtor em 2020 foi de apenas R\$ 2,25 em Goiás (R\$ 2,07 no Paraná), no entanto, não equivale ao custo da sua produção, visto que em 2021, setembro apresentou melhor retorno ao produtor e não passou de R\$ 2,41/litro em Minas Gerais (MILKPOINT, 2020; PEDROSO; COSTA, 2020; CARVALHO; ROCHA, 2022).

Além disso, a variável qualidade é um parâmetro que influencia diretamente o lucro do produtor, pois, quando direcionado a laticínios para beneficiamento de subprodutos, os parâmetros físico-químicos e



microbiológicos do leite determinam o valor a ser pago (FUNDAÇÃO ROGE, 2020).

Os parâmetros descritos pela Fundação Roge (2020) são referentes a gordura, proteína, células somáticas e bactérias totais, que impactam no retorno financeiro do produtor pois alteram a qualidade e rendimento dos subprodutos. Um leite de boa qualidade precisa atender parâmetros físico-químicos e microbiológicos, conforme normativas vigentes, tendo: i) alto valor nutritivo, ii) sabor e odor agradáveis; iii) cor branco amarelada; iv) aspecto uniforme sem grumos; v) ausência de contaminantes e microorganismos patógenos, e; vi) livre de adulteração (PEIXOTO; CARVALHO; MAGALHÃES, 2022).

Esses parâmetros são quantificados por meio de análises laboratoriais, de alto custo e que demandam técnica e/ou equipamentos, ficando o produtor sujeito aos relatórios entregues pelos laticínios, nesse sentido, como reduzir o custo e tornar prática a obtenção dos resultados dessas análises para racionalizar a tomada de decisão do produtor sobre o direcionamento da sua produção?

Nesse sentido, o desenvolvimento de métodos alternativos se torna uma estratégia importante para possibilitar o acesso a estratégias mais econômicas, mas que irão garantir a mesma qualidade e confiabilidade nas informações. Portanto, este artigo tem como objetivo esquematizar proposta de validação analítica de um novo método alternativo para determinação quantitativa do teor de gordura do leite cru.

Com isso, pretende-se: i) Descrever os métodos disponíveis no mercado para determinação do teor de gordura do leite cru; ii) Delimitar as técnicas analíticas e operações necessárias para o desenvolvimento de um novo método para quantificação do teor de gordura; iii) Esquematizar os parâmetros de validação analítica com base na RDC 166/17; iv) Estruturar plano de validação analítica para o método alternativo proposto.



2. Características do Leite

O leite é o produto da secreção das glândulas mamárias, também chamado de úbere, que por meio da sua excitação produz o hormônio ocitocina que será responsável pela descida do leite para alimentação de recém-nascidos, humanos e animais (MORAES, 2016).

O leite se tornou um objeto de estudos científicos em diferentes áreas do conhecimento por conta da sua composição de macronutrientes: água (85-87%), gorduras (3,8-5,5%), proteínas (2,9-3,5%) e carboidratos (5%) (FOROUTAN et. al., 2019).

Segundo Forountan et. al. (2020) a proporção desses macronutrientes depende de fatores internos e externos que englobam atividades metabólicas, condições nutricionais, genética do animal, bem como atividades microbianas e reações enzimáticas.

Segundo Moraes (2016) a proporção desses macronutrientes no leite bovino se diferencia conforme mostra Quadro 01.

Quadro 01 - Os principais constituintes do leite em bovinos.

Espécie	Água (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Carboidratos (%)	Resíduo (%)	Energia (Kcal/100g)
Bovinos	87,3	3,9	3,2	4,6	0,7	66

Fonte: elaborado pelo autor, 2023. Adaptado de Moraes, 2016.

Conforme quadro 01, gordura é o constituinte em maior proporção no leite, depois de água, e são substâncias presentes nos alimentos, com características apolares, sendo assim insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos como éter etílico, hexano clorofórmio e álcoois (CECCHI, 2003, p. 85).

A gordura do leite é composta por diferentes lipídios como os triglicerídeos (98,5%), fosfolipídios (1,11%), o colesterol (0,46%), dentre outros (GERMAN; DILLARD, 2007). Essa composição é responsável por



características organolépticas, físicas e nutricionais do alimento além de auxiliar no combate de algumas doenças (NUNES et. al, 2007).

Referente as características químicas dos triglicerídeos, eles são insolúveis em água e constituem os principais ácidos graxos (gorduras) presentes no leite que, por sua vez, são formados por um grupo carboxila ligado a uma longa cadeia de hidrocarbonetos (ORDÓÑEZ, 2004, p. 19).

Quando relaciona aos ácidos graxos, os que se apresentam em maior proporção na porção de gordura do leite são os ácidos mirísticos (8-15%), palmítico (20-32%), esteárico (7-15%) e oléico (15-30%) (ORDÓÑEZ, 2004, p. 19).

Para quantificação do teor de gordura para leite cru refrigerado, conforme especificação descrita na IN 76, a IN 30/2018 estabelece método oficiais de alimentos, compilados no Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal e disponibilizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Alimentos (BRASIL, 2018; MILKPOINT, 2018).

3. Legislações

Para fins regulatórios “o leite cru refrigerado é o leite produzido em propriedades rurais, refrigerado e destinado aos estabelecimentos de leite e derivados sob serviço de inspeção oficial” (BRASIL, 2018).

Em 2002, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, aprovou um regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, cru refrigerado e pasteurizado por meio da Instrução Normativa 51 – IN 51/2002 (BRASIL, 2002a).

A IN 51 foi revogada e hoje a vigente é a IN 77/2018 que expandiu os critérios técnicos de produção e instrui sobre a composição da propriedade, equipamentos, instalações e capacitação técnica do profissional que opera a granja o trabalho operacional na granja leiteira (BRASIL, 2018a)



Atualmente, também está vigente a IN 76/2018 que trata de regras técnicas para as características e a qualidade do produto na indústria, conforme Brasil (2018b) determinando os requisitos físico-químicos descritos no Quadro 02.

Quadro 02 - Composição físico-química do leite cru refrigerado conforme IN 76/2018.

PARÂMETRO	ESPECIFICAÇÃO	PERÍODO DE ANÁLISE
Gordura	Mínimo 3g/100g	Mensal
Proteína	Mínimo 2,9g/100g	
Lactose anidra	Mínimo 4,3g/100g	
Sólidos não gordurosos	Mínimo 8,4g/100g	
Sólidos totais	Mínimo 11,4g/100g	
Acidez titulável	0,14 a 0,18g de ácido láctico/100mL	
Alizarol	Estável na conc. mínima 72% v.v.	
Densidade relativa	1,028 a 1,034 a 15 °C	
Crioscopia	-0,512 a -0,536 °C	

Fonte: elaborado pelo autor, 2023. Adaptado de Brasil, 2018.

No Quadro 02 estão descritas as análises físico-químicas que são obrigatórias para leite, no entanto, a IN 76/2018 ainda exige a isenção de substâncias como antibióticos, substâncias alcalinas e reconstituintes de densidade/crioscopia além de determinar as especificações de análises microbiológicas abrangendo contagem de células somáticas – CCS e contagem padrão em placas – CPP (BRASIL, 2018).

Relacionado a validação de metodologia, a RDC 166/17 tem como objetivo principal estabelecer critérios para validação de métodos analíticos abrangendo insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases de produção (BRASIL, 2017).

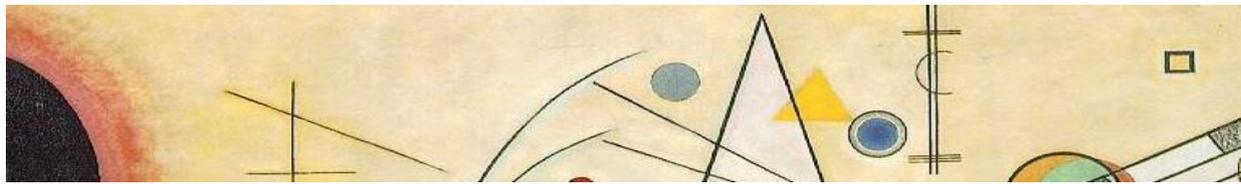


Quadro 03 - Parâmetros de validação analítica conforme RDC 166/17.

Parâmetro	Ao que se destina:	Como desenvolver:
Seletividade	Demonstrar a capacidade de identificar/quantificar o analito de interesse presentes na amostra, mesmo com a presença de impurezas, diluentes e componentes da matriz.	Deve demonstrar sua capacidade de obter resultado positivo para amostra contendo o analito e resultado negativo para outras substâncias presentes na amostra.
Linearidade	Demonstrar a capacidade do método obter resposta proporcional a concentração do analito da amostra.	Realizar triplicata de cada preparação da amostra concentrada a 80%, 90%, 100%, 110% e 120% em relação ao analito, ou seja, a amostra precisa ser preparada de modo que o analito esteja conforme as 05 concentrações mencionadas.
Precisão	Avaliar a proximidade dos resultados obtidos com o método.	<u>Repetibilidade</u> : i) triplicata de cada amostra concentrada a 80%, 100% e 120%, ou; ii) sextuplicata da amostra concentrada a 100%. <u>Reprodutibilidade</u> : realizar o mesmo procedimento adotado na repetibilidade com as mesmas amostras, no entanto, realizada por outro analista em um outro dia.
Exatidão	Avaliar a concordância dos resultados, ou seja, o quão próximo do valor real os resultados obtidos estão.	Realizar triplicata de cada amostra concentrada a 80%, 100% e 120%.
Robustez	Identificar se o método tem capacidade de resistir a pequenas variações analíticas.	Submeter o método a variações nas condições que possam interferir na resposta analítica (tempo de extração, estabilidade de soluções analíticas, tempo de processo, condições ambientais, dentre outros).

Fonte: elaborado pelo autor, 2023. Adaptado de Brasil, 2017.

Essa resolução se mantém como norteadora para validação de métodos alternativos, pois, já prevê em seus incisos os parâmetros que devem ser avaliados durante o desenvolvimento/validação de um método alternativo (BRASIL, 2017).



4. Métodos Oficiais para Determinação de Gordura em Leite

O MAPA define os Métodos Oficiais para Análise de Produtos de Origem Animal, e para o leite fluido o método referência é gravimétrico descrito no International Dairy Federation, IDF 1:2010 ou o método descrito na norma NMKL 40, conhecido como método de Gerber (BRASIL, 2022b).

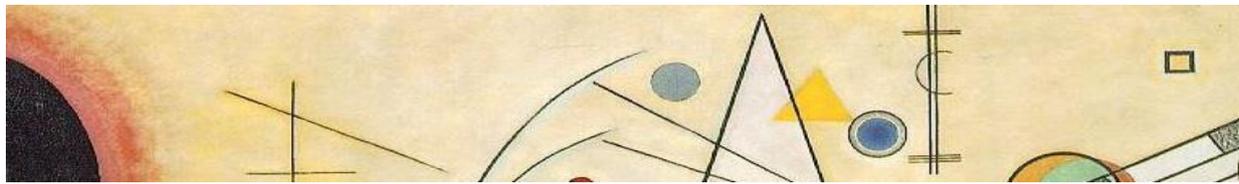
Esse método utiliza um ácido forte para decompor as proteínas e o teor de gordura é separado da fase hidratada por centrifugação, tendo a separação facilitada pela adição de álcool isoamílico, para posterior determinação do teor pela escala do butirômetro (BRASIL, 2022b).

No processo, é acrescentado uma porção da amostra de leite em ácido sulfúrico e álcool amílico. Após homogeneização da amostra o butirômetro é submetido a centrifugação por 4 a 5 minutos em rotação de 1200 a 1400 rpm. Em seguida amostra é deixada em banho maria por até 3 minutos em temperatura de 65 a 66 °C e ao final é feita a leitura na própria escala do butirômetro em % (FERNANDES; MARICATO, 2010).

Outro método é tido por gravimetria, onde é necessário a solubilização das proteínas do leite para propiciar a quebra de emulsão de gordura-proteína possibilitando a determinação do teor de gordura por diferença de massa (MILKPOINT, 2018).

5. Plano de Remuneração do Produtor

No Brasil, grande parte das propriedades rurais seguem uma política de remuneração "imposta" pelos laticínios, e, nessa política o produtor e melhor remunerado se atender a alguns quesitos, conforme descritos no Quadro 04 (FAGUNDES, 2006).



Quadro 04 - Sistema de pagamento por qualidade do leite (produtos x indústrias).

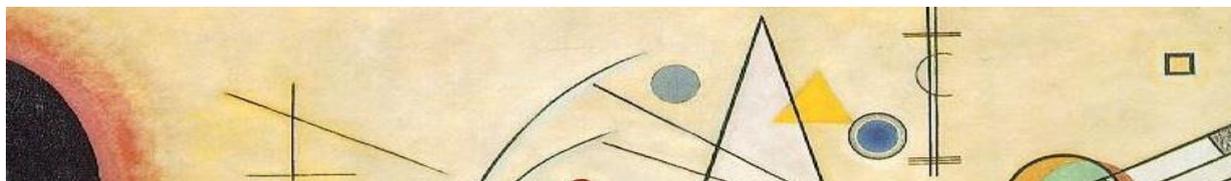
SISTEMA DE PAGAMENTO	CONDIÇÕES
Remuneração por infra-estrutura e limites mínimos de qualidade	Incentiva os produtores que investem em resfriadores, pastagens, silagens, sanidade animal, ordenhadeira mecânica, etc. O leite será remunerado de acordo com os principais testes de qualidade, como a Contagem de Células Somáticas e a Contagem Padrão em Placas.
Remuneração baseada nos componentes	As indústrias passam a remunerar o produtor em razão da quantidade de cada componente do leite que possua valor industrial (proteína, gordura, entre outros).
Remuneração baseada no destino industrial do leite	Pagamento de fornecedores de matéria-prima para o leite fluido (melhor qualidade); pagamento do leite-indústria (com diferenciais de requisitos de componentes sólidos de acordo com o produto a ser fabricado – leite em pó, queijo, manteiga, etc.); e outros.

Fonte: elaborado pelo autor, 2023. Adaptado de Fagundes, 2006.

Não obstante os preços praticados para pagamento aos produtores, eventos como a pandemia prejudicam a sua remuneração devido aos preços comerciais do litro do leite, como apontado no 318º leilão *Global Dairy Trade* – GTD, realizado em outubro de 2022 (FARIA, 2022)

O evento trouxe que 2022 apresentou o recuo mais expressivo desde janeiro de 2021 (4,81%), respectivo a US\$ 3,723/tonelada, no entanto, o cenário é promissor para estabilização da demanda, que precisa ocorrer visto o preço atualizado no ano atual pago ao produtor nacional de R\$ 3,05/litro (FARIA, 2022).

Atualmente, o método de remuneração baseado em componentes é o mais praticado entre os laticínios e, nesse aspecto, o teor de gordura é uma das variáveis mais importantes visto o impacto na produção dos derivados do leite e a necessidade técnica para análise, fazendo com que o pequeno produtor fique sujeito da remuneração apenas sob a ótica dos resultados da indústria.



Desenvolver método alternativo para gordura pode auxiliar o produtor na tomada de decisão sobre o destino da sua produção, ou seja, se destina seu produto à laticínios, se busca por formas alternativas de monetização da sua produção para garantir, ou aumentar, a sua renda ou simplesmente utiliza como parâmetro comparativo entre os resultados emitidos pelo laticínio.

6. Método Alternativo para Determinação de Gordura em Leite Fluído

O leite é composto por quase 90% de água, nesse sentido, a gordura do leite não se dissolve devido a polaridade das ligações, formando uma mistura heterogênea com a gordura flutuando sobre o líquido principal (OLIVEIRA; TIMM, 2006).

Na composição de proteína presente no leite, a caseína é a responsável pelo agrupamento entre as moléculas de água e gordura e se separam quando aquecida, nesse sentido, a gordura, por densidade, fica submersa e a proteína volta a se dissolver quando o leite é resfriado (OLIVEIRA; TIMM, 2006).

A gordura do leite é considerada uma gordura plástica, ou seja, moldável em temperatura ambiente, constituída por uma rede de cristais em uma matriz oleosa. A cristalização é influenciada principalmente pela forma que a gordura é resfriada (RODRIGUES-RACT et al., 2010).

A velocidade de crescimento de cristais é proporcional a supersaturação, nesse sentido, o resfriamento lento sob agitação suave leva à formação de cristais grandes facilmente visíveis a olho nu (RODRIGUES-RACT et al., 2010).

Para o método alternativo proposto o leite cru refrigerado a 4°C será submetido à fervura (próximo a 100 °C) e, posteriormente, refrigerado novamente a 4 °C até temperatura constante.



Na sequência, 10 mL de amostra serão centrifugadas, unicamente, por 3 minutos a 3000 rpm. Por meio dessa operação, a amostra se tornará uma mistura heterogênea, devido a polaridade das ligações entre fase líquida e gordura e formação das redes de cristalização, sendo possível visualizar uma fase de gordura sobrenadante, viabilizando a determinação do volume de gordura presente na amostra.

6.1 Fator de Correção do Método Alternativo

Será necessária a definição de fator de correção por meio de correlação estatística entre teor de gorduras totais obtido pelo método alternativo *versus* teor de gorduras totais obtido por meio de análise butirométrica.

Para isso, as mesmas amostras serão testadas por ambos os métodos, ou seja, pelo método por butirômetro, aprovado pelo MAPA, e pelo método alternativo proposto pela pesquisa, tendo os respectivos dados avaliados estatisticamente para aprovação das hipóteses levantadas e validação do nível de significância.

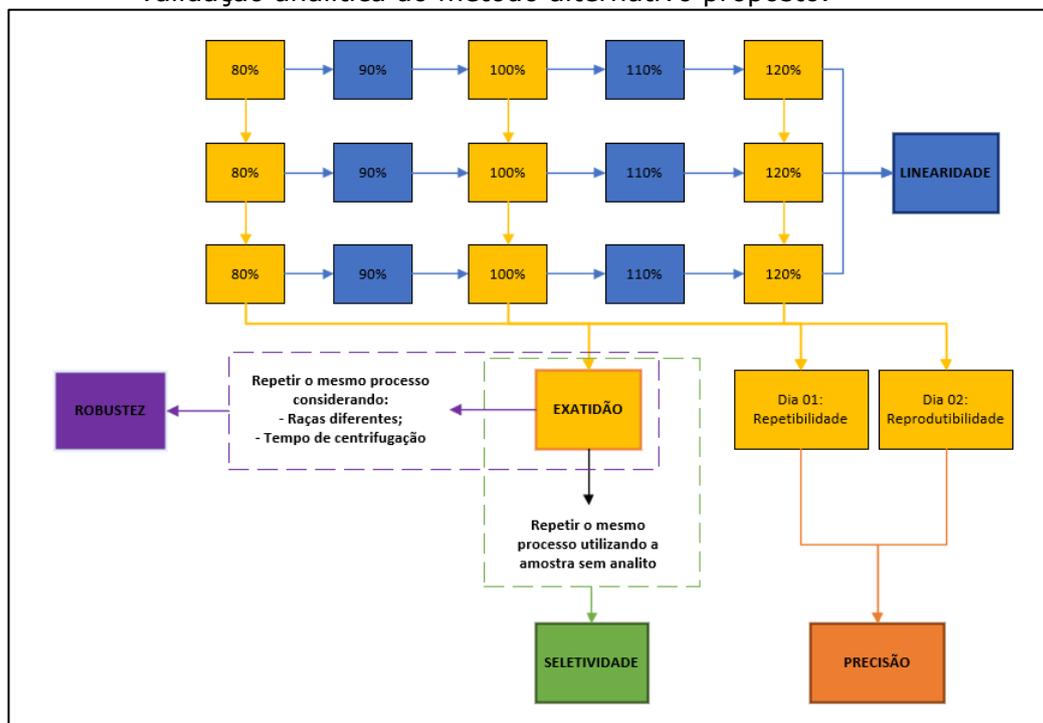
Essa correlação atribuirá base estatística para definição do fator de correção, propiciando a validação do método alternativo e análise de fatores interferentes como data de coleta das amostras, diferenças de raças leiteiras, variação analítica, além de garantir a repetibilidade, reprodutibilidade e robustez do método proposto.

6.2 Esquematização para Validação de Método

Para validação analítica do método, deverão ser seguidos todos os parâmetros de validação analítica, conforme preconizado na RDC 166/17 e, para isso, é proposto o fluxo para desenvolvimentos dos testes, como mostra a Figura 01.



Figura 01 – Esquema de realização de testes para avaliação dos parâmetros de validação analítica do método alternativo proposto.



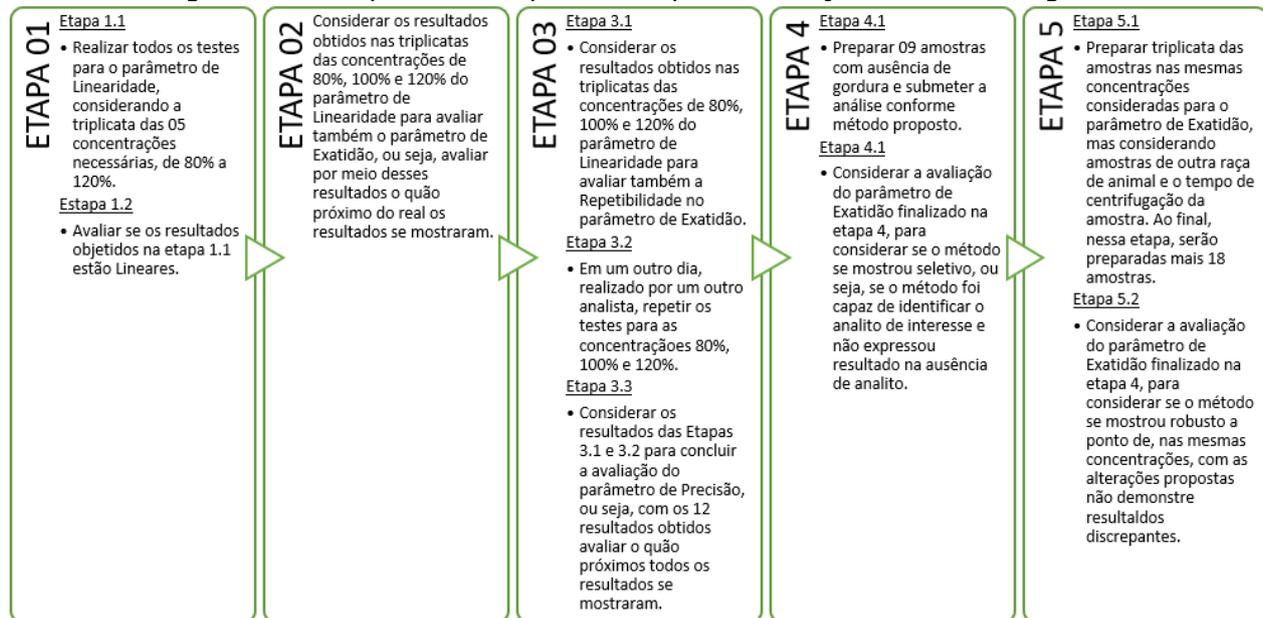
Fonte: elaborado pelo autor, 2023. Adaptado de Brasil, 2017.

Pelo esquema ilustrado na Figura 01, pretende-se seguir com a validação do método de forma a otimizar o tempo de realização das amostras, ou seja, como cada parâmetro tem o objetivo de avaliar aspectos, os mesmos resultados serão utilizados para avaliação de parâmetros diferentes.

Para entendimento de como será o processo de execução das amostras, a Figura 2 propõe a explicação do processo por etapas.



Figura 02 – Sequência dos processos para validação da metodologia



Fonte: elaborado pelo autor, 2023.

Com base na Figura 2 considera-se que as Etapas 1.1, 2, 3.1, 4.1 e 5.1, que envolvem preparo de amostras, podem ser realizadas no mesmo dia. São preparos distintos e um não irá impactar ou contaminar outra amostra. Necessariamente a Etapa 3.2 precisa ser realizada em outro dia para cumprimento das exigências da RDC 166/17.

No preparo da amostra de linearidade é importante se atentar a concentração real de gordura na amostra, para manter a proporção de analito nas concentrações ideais, para isso, a amostra deve ser submetida a análise butirométrica para determinação da concentração e só então ser iniciado o preparo das amostras nas concentrações de 80 a 120%.

Para seletividade é preciso que o método identifique o analito de interesse independente das possíveis interferências, nesse sentido, como o método se prepõe à análise de gordura de leite cru (integral) a proposta é submeter leite desnatado ao teste visto que se espera resultado nulo, possibilitando a avaliação de falso positivo, ou seja, o resultado expresso de gordura na amostra com analito tende a ser realmente a porcentagem de gordura da amostra.



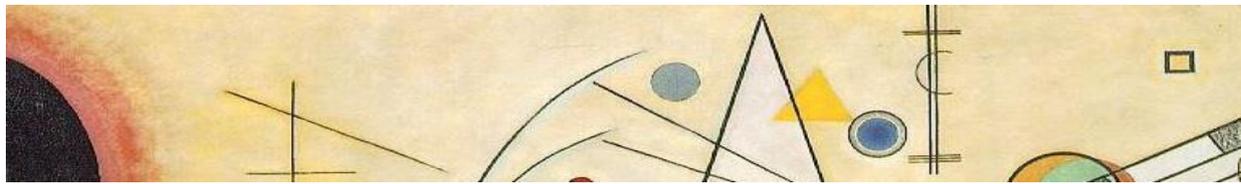
Para robustez serão considerados dois fatores: a variação de raça é por conta da proporção de gordura na amostra que pode sim variar de acordo com a raça do animal; o tempo de centrifugação é para garantir que a separação do analito não sofrerá muita influência ao longo do tempo, pois como a amostra é analisada refrigerada, a gordura ficará retida sobre a parte líquida sendo necessário aquecer a amostra novamente para homogeneização, no entanto, precisa ser analisado se o menor tempo de rotação pode reduzir a proporção de gordura retida sobre a amostra.

As ilustrações descritas na Figura 1 e Figura 2 não demonstram, mas é importante que na avaliação dos parâmetros de validação sejam considerados as respectivas métricas exigidas pela RDC 166/17, como cálculo de regressão linear, determinação de coeficiente de correlação (r^2), os desvios padrões relativos (DPR) e os critérios de aceitação de cada parâmetro.

7. Considerações

O desenvolvimento de métodos alternativos é uma forma viável de atender a uma necessidade real de produtores leiteiros. Hoje limitados a pareceres esporádicos emitidos por laticínios, ter uma alternativa econômica e aplicável *in loco* pode nortear o produtor na tomada de decisão sobre o destino da sua produção.

O método alternativo proposto na pesquisa se justifica pela sua aplicabilidade científica e se mostrou possível de ser validado frente as exigências da RDC 166/17 e se espera que traga resultados confiáveis quando comparados aos obtidos por meio de métodos oficiais.



Referências

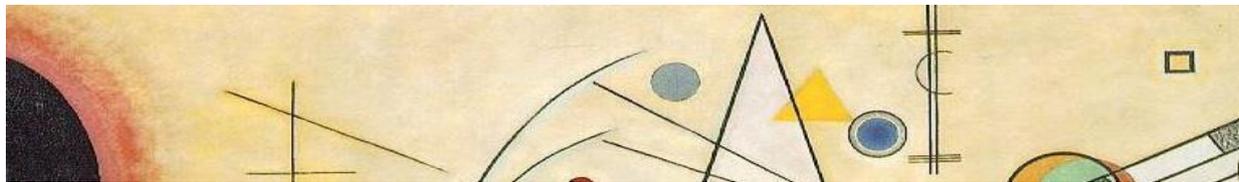
BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa n. 51 de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2002a. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-51-de-18-de-setembro-de-2002.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2018a. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887>. Acesso em: 05 jun. 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Aprova os regulamentos técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2018b. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076>. Acesso em: 21 out. 2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Métodos oficiais para análise de produtos de origem animal. 2022b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfda/legislacao-metodos-da-rede-lfda/poa/metodos_oficiais_para_analise_de_produtos_de_origem_animal_1a_ed-2022assinado.pdf>. Acesso em: 06 jun. 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2017. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412>. Acesso em: 03 jun. 2023.



CARVALHO, G. R.; ROCHA, D. T. DA. EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Cai a produção de leite inspecionado em 2021 e a região Sul é destaque. In: **Anuário leite 2022**. 2022. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1144110/1/Anuario-leite-2022.pdf>>. Acesso em: 03 jun. 2023.

FAGUNDES, M. H. Uma nova etapa da Instrução Normativa nº 51: a Região Centro-Sul. In: **Revista de Política Agrícola**. n. 2, 2006. Disponível em: <<https://seer.sede.embrapa.br/index.php/RPA/article/viewFile/497/448>>. Acesso em: 21 nov. 2021.

FARIA, T. da C. **GDT: preços internacionais dos lácteos seguem em queda**. 2022. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/panorama-mercado/gdt-precos-internacionais-dos-lacteos-seguem-em-queda-231738/>>. Acesso em: 21 nov. 2022.

FENANDES, V. G.; MARICATO, E. Análises físico-químicas de amostras de leite cru de um laticínio em Bicas-MG. IN: **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Torres**. n. 375, 2010. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/download/129/134>. Acesso em: 21 nov. 2022.

FOROUTAN, A. et. al. Chemical Composition of Commercial Cow's Milk. In: **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2019, v. 67, n. 17, p. 4897-4914, 2019. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jafc.9b00204>>. Acesso em: 20 out. 2020.

FUNDAÇÃO ROGE. **Remuneração do leite por qualidade: entenda os critérios avaliados**. 2020. Disponível em: <<https://www.fundacaoroge.org.br/blog/remuneracao-do-leite-por-qualidade-entenda-os-criterios-avaliados>>. Acesso em: 15 out. 2020.

GERMAN, J. B.; DILLARD, C. J. Composition, Structure and Absorption of Milk Lipids: A Source of Energy, Fat-Soluble Nutrients and Bioactive Molecules. In: **Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 1, P. 57-92, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10408690590957098>>. Acesso em: 20 out. 2020.

LEITE, J. L. B.; STOCK, L. A.; RESENDE, J. C. Leite no mundo: produção deve crescer. In: **Saúde única e total**. 2021. Anuário do leite 2021 – EMBRAPA. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/224371/1/Anuario-Leite-2021.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2022.



MEZZADRI, F. P. – Departamento de Economia Rural. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. **Prognóstico: pecuária de leite.** 2020. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-01/leite_2020_0.pdf>. Acesso em: 12 out. 2020.

MILKPOINT. **As análises oficiais de alimentos mudaram! E agora?.** 2018. Disponível em: < <https://www.milkpoint.com.br/colunas/rafael-fagnani/as-analises-oficias-de-alimentos-mudaram-e-agora-210852/>>. Acesso em: 21 out. 2020.

MILKPOINT. **Estatísticas.** 2020. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/estatisticas/>>. Acesso em: 12 out. 2020.

MORAES, I.A. **Fisiologia da glândula mamária.** 2016. Notas de aula. Disponível em: <http://www.uff.br/fisiovet/lactacao.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2022.

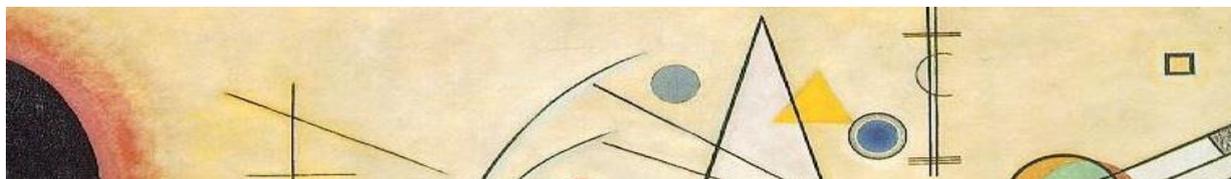
NUNES, G. F. M.; et. al. Modificação bioquímica da gordura do leite. In: **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 431-437, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000200034&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 20 out. 2020.

OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C. D.. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 259-263, abr. 2006. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/5gSDF9fxDsFNLNDYgnv6drs/?lang=pt&format=html#>>. Acesso em: 06 jun. 2023.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal.** v.2, São Paulo – SP: Artmed, 2004, p. 14-40.

PEDROSO, A. M.; COSTA, M. T. da. **Produzir leite pode ser uma atividade lucrativa no atual cenário?** 2020. Disponível em: < <http://revistasafra.com.br/produzir-leite-pode-ser-uma-atividade-lucrativa-no-atual-cenario/>>. Acesso em: 12 out. 2020.

PEIXOTO, M. G. C. D.; CARVALHO, M. R. S.; MAGALHÃES, V. M. A. de. **O leite bovino que produzimos e consumimos.** 2022. EMBRAPA gado de leite. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/237872/1/O-leite-bovino-que-produzimos-e-consumimos.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2022.



RODRIGUES-RACT, J. N. et al.. Comportamento de cristalização de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura do leite e óleo de girassol. **Food Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 258–267, jan. 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/sqNXHsVc4cxQD9Mp7cyKwcj/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 06 jun. 2023.

SIQUEIRA, K. B. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Consumo de leite e derivados no Brasil. In: **Anuário leite 2019**. 2019b. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/198698/1/Anuario-LEITE-2019.pdf>. Acesso em: 12 out. 2020.

SIQUEIRA, K. B. **O mercado consumidor de leite e derivados**. Juiz de Fora – MG: Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2019, 17 p. Circular técnica, 120. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/199791/1/CT-120-MercadoConsumidorKenny.pdf>. Acesso em: 12 out. 2020.