

COMPARAÇÃO DA ANÁLISE POR ESPECTROMETRIA ULTRASSÔNICA E ESPECTROMETRIA POR INFRAVERMELHO NOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE INTEGRAL UHT

Josélio de Souza Cavalcante Júnior¹, Anderson Junger Teodoro²

¹ Graduando em Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)

² Doutor em Ciência dos Alimentos, Professor Associado do Departamento de Nutrição e Dietética da Universidade Federal Fluminense (UFF)

Resumo

O leite integral UHT, bem como o leite de modo geral, é um produto alvo de adulterações, que apesar de favorecerem o produtor prejudicam o consumidor. Portanto, a busca por métodos de análise rápidos e de baixo custo que assegurem a qualidade do produto é uma realidade nos vários setores da produção leiteira. Neste estudo, foram empregados métodos rápidos de análise por espectrometria por ultrassom e por infravermelho com transformada de Fourier. Os resultados das análises físico-químicas do leite integral UHT foram comparados com valores estabelecidos por legislações brasileiras vigentes. Onde após análise estatística foram encontradas inadequações principalmente nos teores de sólidos totais ($p < 0,05$, $r = 0,47$), sólidos não gordurosos ($p < 0,05$, $r = 0,19$) e no índice crioscópico ($p < 0,05$, $r = 0,34$). Todavia, os macronutrientes, composto por teor de gordura ($p < 0,05$, $r = 0,85$), teor de proteína ($p < 0,05$, $r = 0,08$) e teor de lactose ($p = 0,15$, $r = 0,11$), mostraram menores inadequações, em especial a lactose, sendo o único parâmetro a atender todos os valores esperados por legislação. Ambos os métodos instrumentais se mostraram mais desejáveis no uso para análise rotineira de macronutrientes.

Palavras-chave: LEITE UHT; COMPOSIÇÃO; ULTRASSOM; INFRAVERMELHO; QUALIDADE.

Abstract

UHT whole milk, as well as milk in general, is a product that is the target of adulteration, which, despite favoring the producer, harms the consumer. Therefore, the search for fast and low-cost analysis methods that ensure the quality of the product is a reality in various sectors of dairy production. In this study, rapid methods of analysis by ultrasound and infrared spectrometry with Fourier transform were employed. The results of the physical-chemical analyzes of UHT whole milk were compared to current Brazilian legislation established values. Where, after statistical analysis, inadequacies were found mainly in the contents of total solids ($p < 0.05$, $r = 0.47$), non-fat solids ($p < 0.05$, $r = 0.19$) and in the cryoscopic index ($p < 0.05$, $r = 0.34$). However, the macronutrients, composed of fat content ($p < 0.05$, $r = 0.85$), protein content ($p < 0.05$, $r = 0.08$) and lactose content ($p = 0.15$, $r = 0.11$), showed less inadequacies, especially lactose, being the only parameter to meet all the values expected by legislation. Both instrumental methods have been shown to be most desirable for use in routine macronutrient analysis.

Keywords: UHT MILK; COMPOSITION; ULTRASOUND; INFRARED; QUALITY.

INTRODUÇÃO

O leite é um produto essencial tanto no que diz respeito ao seu consumo direto, quanto no beneficiamento, deste modo, sendo um produto alvo de adulterações.¹ O processo de fraude visa diminuir a quantidade do produto e completar o volume com outros componentes como água, amido de milho e óleo vegetal, conseqüentemente diminuindo o custo e aumentando o lucro do produtor. Entretanto, essa substituição de ingredientes altera completamente o perfil nutricional, físico-químico ou microbiológico do leite, diminuindo a qualidade do produto ou, em alguns casos, tornando-o prejudicial ao consumidor final.

A descrição do leite é estabelecida pela Instrução Normativa nº62/2011², na qual fica claro que leite sem nenhuma outra especificação é o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. Por sua vez, o leite UHT (Ultra High Temperature ou UAT – Ultra Alta Temperatura), quanto às suas características sensoriais, é um líquido branco opalescente homogêneo, com odor e sabor característico e ausente de sabores e odores estranhos.³ No que diz respeito ao seu beneficiamento, é o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura de 130° C a 150° C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32° C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas.⁴

Nas usinas de beneficiamento são feitas análises para assegurar a qualidade do produto e garantir a segurança do consumidor. Neste estudo, o foco é voltado para as análises físico-químicas por instrumentos.

Existem duas principais vantagens na análise de leites por métodos instrumentais quando comparado aos métodos oficiais. As principais vantagens são o uso reduzido de vidrarias e instrumentos, o curto tempo gasto na análise e o fato de dar resultados para muitos parâmetros em uma única operação. A análise pelo emprego dos métodos clássicos pode levar horas ou mesmo, dependendo do método usado, mais de um dia.

Neste estudo foram realizadas análises de seis parâmetros comuns aos instrumentos, sendo eles: gorduras totais, proteína total, lactose anidra, sólidos não gordurosos, sólidos totais e índice crioscópico. Os instrumentos utilizados foram um analisador ultrassônico e um analisador por infravermelho com transformada de *Fourier*.

O método ultrassônico utiliza um sinal de alta frequência, fornecido por um gerador de alta frequência, que em seguida é amplificado no amplificador de energia linear. O sinal é então transmitido para um transdutor piezoelétrico que compõe a primeira parte da cubeta que

armazena a amostra, passando através dela. O sinal resultante então é captado por outro transdutor piezoelétrico ao final da cubeta. Em seguida, o sinal é convertido para um sinal elétrico de corrente contínua que será analisado automaticamente pelo compilador de dados⁵, neste caso, presente no próprio instrumento ao final do processo.

Por sua vez, o método por infravermelho com transformada de *Fourier*, inicia o processo de análise com a emissão de um feixe de radiação infravermelha que atravessa um divisor de feixe (*beam-splitter*), com o objetivo de dividir o feixe em duas partes iguais que serão refletidas por um espelho fixo e um espelho móvel. O feixe recombinação é desviado por espelhos acessórios para o Elemento de Reflexão Interna (IRE - *Internal Reflection Element*) que compõe parte da bandeja de Reflexão Total Atenuada (ATR - *Attenuated Total Reflectance*), interagindo apenas nos vértices formados pelo feixe luminoso com a amostra armazenada na cubeta que compõe a outra parte da bandeja ATR. Após a saída do feixe do IRE, o feixe resultante será guiado por um espelho acessório ao detector no final do processo.^{6, 7} Com as oscilações de intensidade de radiação geradas no processo, torna-se possível a criação de um interferograma, que será convertido, por algoritmo integrado ao instrumento, em um espectrograma para interpretação dos dados obtidos.⁸

De modo simplificado, ambos instrumentos possuem um modelo calibrado para análise de leite UHT que é comparado ao perfil encontrado no processo analítico, tornando possível a criação do espectrograma. No entanto, os instrumentos utilizados neste estudo abstraem o espectrograma e retornam apenas os valores absolutos das análises, tornando o processo mais simples.

Com o exposto, o objetivo do estudo é comparar os resultados das análises de leite UHT em diferentes parâmetros físico-químicos utilizando métodos espectrométricos por ultrassom e por infravermelho (FTIR) com os valores estabelecidos nas legislações vigentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram adquiridas 32 amostras de leite UHT, estas envasadas em caixas *Tetra Pak*® ou garrafas PET de 1 litro, no período de 15 de janeiro a 29 de janeiro de 2019. Com menor e maior datas de vencimento respectivamente compreendidas entre 12 de fevereiro a 22 de maio de 2019.

A aquisição das amostras foi realizada em supermercados dos bairros de Irajá, Pavuna e Anchieta, na cidade do Rio de Janeiro. E em um supermercado do centro da cidade de Nova Iguaçu.

Como critério para aquisição das amostras foram escolhidas duas amostras da mesma marca de leite em lotes diferentes, portanto 16 marcas e 32 lotes.

As análises foram realizadas no Laboratório de Alimentos Funcionais (LAAF), localizado no bairro da Urca, Rio de Janeiro - RJ, no período de 16 a 31 de janeiro de 2019, respeitando o menor prazo de vencimento das amostras.

De cada embalagem de 1 litro de leite foram retiradas duas alíquotas de 50 ml para a análise. Estas alíquotas foram propriamente identificadas, bem como as embalagens de leite, e armazenadas em tubos *Falcon* de 50 ml estéreis. As alíquotas que não foram utilizadas no mesmo dia para análise foram armazenadas sob congelamento.

As amostras congeladas foram descongeladas e analisadas no mesmo dia após a abertura da amostra entrar em equilíbrio com aquela do laboratório.

Os instrumentos utilizados para análise de leite UHT, foram o analisador ultrassônico (INS1) da marca Lactoscan, modelo SP e o analisador por FTIR (infravermelho com transformada de Fourier, INS2) da marca MilkoScan™, modelo FT2. Ambos os instrumentos foram previamente calibrados antes da realização das análises.

Os 32 lotes foram analisados em triplicata usando cada um dos instrumentos, dando origem a 96 resultados para cada um deles e para cada parâmetro analisado. Os dados obtidos foram então organizados e analisados em planilha eletrônica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como referência para os dados obtidos nas análises foi utilizada a Instrução Normativa nº76/2018³, referente às propriedades físico-químicas do leite tipo A, ou seja, leite cru que pode posteriormente ser submetido ao tratamento UHT. A razão do uso dessa referência em detrimento da Portaria nº370/1997¹⁰, se dá devido esta Portaria contemplar apenas dois parâmetros avaliáveis pelos instrumentos usados, ao passo que a Instrução Normativa citada contempla seis parâmetros.

Os parâmetros analisados pelos instrumentos relativos a Instrução Normativa nº76/2018³, são o teor de gordura (mín. 3%), o teor de proteína total (mín. 2,9%), o teor de lactose anidra (mín. 4,3%), sólidos totais (mín. 8,4%), sólidos não gordurosos (mín. 11,4%) e o índice crioscópico (-0,512°C a -0,536°C).

A Resolução nº360/20039, relativa à rotulagem nutricional de alimentos embalados, foi utilizada como referência apenas nos teores de gordura e proteína, onde é possível estabelecer um limite de 20% de tolerância para mais ou para menos do resultado obtido na

análise com o descrito no rótulo do produto.

Tabela 1. Análise da média, desvio padrão e coeficiente de variação do INS1 e do INS2.

Teste t de *Student* e correlação de *Pearson* entre as médias de INS1 e INS2.

	INS1			INS2			p-valor	r
	Média	DP	CV	Média	DP	CV		
Gordura	3,28	0,25	7,71%	3,10	0,19	5,99%	$4,55 \times 10^{-23}$	0,85
Proteína	2,98	0,12	4,11%	3,17	0,11	3,33%	$4,18 \times 10^{-21}$	0,08
Lactose	4,51	0,18	3,93%	4,48	0,09	1,96%	0,15	0,11
Índice crioscópico	-0,545	0,024	4,49%	-0,509	0,014	2,74%	$2,58 \times 10^{-26}$	0,34
Sólidos não gordurosos	8,13	0,31	3,83%	8,47	0,20	2,34%	$2,76 \times 10^{-16}$	0,19
Sólidos totais	11,41	0,49	4,26%	11,57	0,36	3,09%	$4,62 \times 10^{-4}$	0,47

Fonte: Elaborado pelos autores.

DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação; p-valor: relativo ao teste t de Student ($\alpha = 0,05$) entre os instrumentos; r: correlação de Pearson entre os instrumentos.

O teor de gordura médio de cada instrumento, como visto na tabela 1, corresponde ao mínimo esperado por legislação³. Entretanto, 8 amostras (8,33%) no INS1 e 24 amostras (25%) no INS2, estavam abaixo do mínimo previsto.

Todos os resultados do teor de gordura de cada instrumento estavam dentro do limite de tolerância de 20% abaixo do descrito no rótulo, como estabelecido na Resolução nº360/2003⁹, onde o menor valor encontrado nas análises foi de 8,48% abaixo. Contudo, 6 amostras (6,25%) do INS1 estavam acima de 20% do descrito no rótulo com o maior valor 26,33% acima.

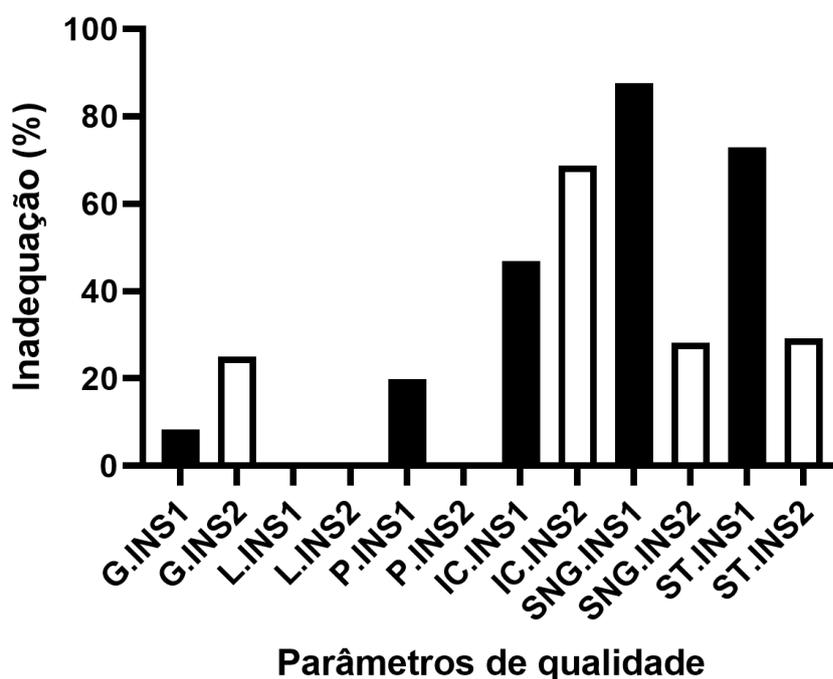
Ainda sobre o teor de gordura, em ambos instrumentos, a forte correlação de 0,85 ($r > 0,7$) entre os resultados e a diferença estatística das médias, seguem de forma oposta ao encontrado por Manske et al. (2019)¹². Uma das possíveis hipóteses para esta diferença no resultado dos estudos, pode estar relacionada a influência direta da homogeneização na atenuação das ondas ultrassônicas¹², ou seja, a homogeneização modifica o tamanho das partículas de gordura, sendo um fato intrínseco a magnitude da atenuação.¹³ Uma segunda hipótese está ligada ao congelamento de parte das amostras, fato que pode ter contribuído para a maior inadequação dos resultados obtidos, por modificação da estrutura do leite devido a formação de cristais de gelo. Também existem as limitações relacionadas ao comprimento de onda, nos dois instrumentos, que podem contribuir com resultados distantes do teor de gordura real.^{12,13}

Os teores médios de proteína total dos instrumentos, correspondem ao previsto por legislação³. Entretanto, 19 amostras (19,79%) do INS1 estavam abaixo do preconizado.

Embora, de acordo com a Resolução nº360/2003⁹, todas as amostras em ambos instrumentos estavam dentro do limite de tolerância de 20% para mais ou para menos do descrito no rótulo do produto, com o mínimo de 17,71% abaixo e máximo de 14,48% acima. Também houve uma fraca correlação de 0,08 ($r < 0,2$) entre os resultados obtidos em cada instrumento.

Devido ao passar do tempo, após abertura das embalagens de leite UHT, as amostras podem sofrer o processo de degradação seja pela ação da temperatura ou pela ação de bactérias mesófilas, o que leva a produção de ácido lático. Dessa forma, métodos que utilizam o infravermelho, como o método do INS2, estão sujeitos a superestimar a quantidade de proteína total da amostra, por fazer a leitura não apenas da caseína e proteínas do soro,¹⁴ mas de outros compostos não protéicos como o ácido lático e interpretá-los como proteína.¹⁵ Contudo, é importante lembrar que houve congelamento das amostras que precisaram ser analisadas posteriormente, diminuindo a possibilidade de ação bacteriana na produção de compostos não protéicos.

Figura 1. Percentual de inadequação de amostras de leite UHT por parâmetros de qualidade.



Fonte: Elaborado pelos autores.

INS1: espectrômetro ultrassônico; INS2: espectroscópio por FTIR; G: gordura; L: lactose anidra; P: proteína total; IC: índice crioscópico; SNG: sólidos não gordurosos; ST: sólidos totais.

No teor de lactose, tanto as médias dos instrumentos quanto os valores absolutos encontravam-se dentro do previsto por legislação³, assim como ilustrado na figura 1. Além de ser o único parâmetro analisado a apresentar igualdade estatística ($p > 0,05$) e concordar com os resultados encontrados por Paula et al. (2019)¹⁶, Tamanini et al. (2011)¹⁷ e De Souza et al. (2004)¹⁸. Todavia, houve uma fraca correlação de 0,11 ($r < 0,2$) entre os resultados dos instrumentos. Um motivo de estabilidade do parâmetro analisado pode ser referente ao fato da lactose ser o principal carboidrato presente no leite e não haver grande variação entre as raças bovinas, como citado no estudo de De Souza et al. (2004)¹⁸.

O índice crioscópico foi o parâmetro com maior diferença estatística ($p = 2,58 \times 10^{-26}$) dentre os parâmetros analisados. Com moderada correlação de 0,34 ($0,2 > r > 0,7$) entre os resultados dos instrumentos. Além de elevada inadequação em relação à legislação³ em ambos instrumentos, com 45 amostras (46,88%) no INS1 e 66 amostras (68,75%) no INS2 fora do previsto.

Segundo Beloti et al. (2015)¹⁹, existem adições incidentais de água ao leite no tratamento por UHT, como água presente no equipamento de aquecimento ou passagem de água por micro-orifícios nos dissipadores de calor, tanto nos setores de aquecimento quanto nos setores de resfriamento. Isso também ocorre em qualquer sistema que utilize injeção de vapor, que deve ser removido em câmara de vácuo posteriormente. Logo, o próprio beneficiamento do leite tipo A pode contribuir para a maior inadequação do índice crioscópico frente à legislação³.

Outro ponto que pode ter contribuído para a inadequação dos resultados é o congelamento das amostras utilizadas no INS2, o que por formação de cristais de gelo, pode ter desestruturado o leite UHT, aproximando-o do ponto de congelamento da água, desse modo comprometendo os resultados obtidos.

A variação do índice crioscópico por adição de água é observável no estudo de Martins et al. (2008)²⁰, onde há diferença nos valores médios do índice crioscópico entre o leite tipo A e o leite UHT. Também é possível considerar que há uma escassa quantidade de parâmetros avaliáveis pelos instrumentos na legislação de identidade do leite UHT¹⁰, o que pode colaborar com a vulnerabilidade do produto à adulterações.

Outra hipótese para alteração do índice crioscópico no leite UHT é explicada pela adição de estabilizantes, sendo mais comum, o estabilizante proteico citrato de sódio^{14, 19, 20, 22}, responsável pela redução dos valores médios de temperatura para índice crioscópico. É importante observar que 14 marcas, que geraram 84 resultados (89,4%) ao todo, possuíam citrato de sódio em sua composição.

No teor de sólidos não gordurosos, 84 amostras (87,5%) no INS1 e 27 amostras (28,13%) no INS2 encontravam-se fora da legislação³. Sendo o número de inadequação encontrado no INS1 o maior dentre todos os parâmetros analisados, como mostrado na figura 1. Além de ter apresentado fraca correlação de 0,19 ($r > 0,2$) entre os resultados de ambos os métodos.

O parâmetro do teor de sólidos totais, assim como o parâmetro anterior, teve maior inadequação dos resultados no INS1, com 70 amostras (72,92%) fora da legislação³ e 28 amostras (29,17%) no INS2. Houve também uma moderada correlação de 0,47 ($0,2 > r > 0,7$) entre os resultados dos instrumentos.

A distância dos valores obtidos dos teores de sólidos não gordurosos e sólidos totais para o mínimo esperado pela legislação, pode ser explicada, assim como no parâmetro do índice crioscópico, pela possibilidade de injeção de vapor d'água no processo UHT e ineficaz recaptação, o que resultaria em diluição dos componentes do leite e conseqüente diminuição dos mesmos no produto final.²³

Ambos instrumentos mostraram pouca dispersão dos resultados nos parâmetros analisados, com o coeficiente de variação máximo de 8%. Também foi possível observar que os valores de dispersão em todos os parâmetros do INS2 eram menores que os encontrados no INS1, mostrando uma maior precisão do INS2.

CONCLUSÃO

Comparando os métodos, eles mostraram pouca correlação entre cada parâmetro, exceto para o teor de gordura e igualdade estatística apenas entre as médias do teor de lactose anidra. Com maior parte dos valores de acordo com as legislações utilizadas, sendo composta por teor de gordura, proteína total e teor de lactose anidra. Logo, ambos métodos são mais interessantes no uso para análise de macronutrientes. Conclui-se que há influência de fatores intrínsecos a cada método sobre os resultados obtidos e que ainda são necessárias mais pesquisas relacionadas às diferenças encontradas entre os métodos instrumentais abordados neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De La Fuente MA, Juaréz M. Authenticity Assessment of Dairy Products. *Critical Reviews in Food Sci. and Nutrition*. 2005;45(7-8):563-85.
2. Brasil. Instrução Normativa nº62/2011. Aprovar o 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, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União. 2011 Dec 30;251(seção 1)6:11.

3. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº76/2018. 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. 2018 Nov 30;230(seção 1):9.
4. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº146/1996. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da União. 1996 Mar 11;48(seção 1)3977-86.
5. Riebel U, Löffler F. The Fundamentals of Particle Size Analysis by Means of Ultrasonic Spectrometry. Part. Part. Syst. Charact. 1989;6:135-43.
6. Faelelbom KM, Saleh A, Al-Tabakha MMA, Ashames AA. Recent applications of quantitative analytical FTIR spectroscopy in pharmaceutical, biomedical, and clinical fields: A brief review. Review in Analytical Chem. 2022;41:21-33.
7. Tiernan H, Byrne B, Kazarian SG. ATR-FTIR spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of biopharmaceuticals. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2020 [cited 2022 Apr 2];241:118636. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118636>
8. Van De Voort FR. Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. Food Research Int. 1992;25:397-403.
9. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução nº360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Diário Oficial da União. 2003 Dec 26; 251(seção 1):33-4.
10. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº370, de 4 de setembro de 1997. Fixa a identidade e as características mínimas que deverá obedecer o leite UHT (UAT). Diário Oficial da União. 1997 Sept 8;172(seção 1):19700.
11. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Retificação da Resolução nº360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Diário Oficial da União. 2013 Jun 26;143(seção 1):32.
12. Manske GA, Rigo E, Gomes FJ, Schogor ALB. Infrared or ultrasonic milk analysis can affect its results? Ciên. Rural. 2019 [cited 2022 Sept 15];49:20180510. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180510>
13. Buckin V. High-resolution ultrasonic spectroscopy. J. Sens. Sens. Syst. 2018;7:207-17.

14. Cassoli LD, Sartori B, Zampar A, Machado PF. An assessment of Fourier Transformed Infrared spectroscopy to identify adulterated raw milk in Brazil. *Int. J. Dairy Tech.* 2011;64(4):280-5.
15. González FHD, Dürr JW, Fontaneli RS. Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2001. 72 p.
16. Paula NCC, dos Anjos Guedes MA, Lemes NS, Santos VR, Silva FC. Caracterização físico-química de leite UHT e desnatado e de leite cru comercializados na cidade de Ituiutaba - MG. *Rev. Inova Ciên. Tecnol.* 2019;5(2):24-32.
17. Tamanini R, Beloti V, Ribeiro Junior JC, Da Silva LCC, Yamada AK, De Abreu Silva F. Contribuição ao estudo da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT. *Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"*. 2011;66(382):27-33.
18. De Souza LG, Dos Santos GT, Sakaguti ES, Damasceno CJ, Matsushita M, Horst JA, et al. Avaliação da composição do leite UHT proveniente de dois laticínios das regiões Norte e Noroeste do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum Animal Sci.* 2004;26(2):259-64.
19. Beloti V, Rios EA, Silva MR, Tamanini R, Yamada AK, Da Silva LCC. Determination of freezing point standard for UHT milk. *Semina: Ciên. Agrárias.* 2015;36(5):3181-8.
20. Martins AMCV, Rossi Junior OD, Salotti BM, Bürguer KP, Cortez ALL, Cardozo MV. Efeito do processamento UAT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. *Ciên. Tecnol. Aliment.* 2008;28(2):295-8.
21. Mareze J, Marioto LRMM, Gonzaga N, Daniel GC, Tamanini R, Beloti V. Detecção de adulterações do leite pasteurizado por meio de provas oficiais. *Semina: Ciên. Bio. Saú.* 2015;36(1):283-90.
22. Robim MS, Cortez MAS, Silva ACO, de Almeida Torres Filho R, Gemal NH, Nogueira EB. Pesquisa de fraude no leite UAT integral comercializado no estado do Rio de Janeiro e comparação entre os métodos de análises físico-químicas oficiais e o método de ultrassom. *Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"*. 2012;67(389):43-50.
23. De Souza Rezer AP. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite UHT integral comercializado no Rio Grande do Sul [master's thesis]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2010. 73 p.