

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS QUALITATIVOS PARA A DETECÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM LEITE CRU E UHT¹

Vinicius César Goulart

Graduado em Medicina Veterinária (UNIPAM).

E-mail: viniciuscgoulart@unipam.edu.br

Luiz Fernando Rocha Botelho

Professor orientador (UNIPAM).

E-mail: luizfrb@unipam.edu.br

Renato Santana de Oliveira

Doutorando em Tecnologia Química e Biológica (Universidade de Brasília).

Marcia de Aguiar Ferreira

Professora (Universidade de Brasília).

RESUMO: A IN nº 62/2011 estabelece os padrões de qualidade para o leite cru e beneficiado e proíbe a adição de qualquer substância química na conservação do leite. No entanto, o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) possui ação bactericida, por isso é usado por fraudadores para recuperar e conservar leites deteriorados, oriundos de ordenha, armazenamento e transporte inadequados, onde houve contaminações e crescimento microbiano no leite. Essa fraude é difícil de ser detectada, pois, após reação com o leite, o H₂O₂ se transforma em água de forma rápida. Sendo assim, objetivou-se avaliar os testes convencionais Guaiacol e Óxido de vanádio e o reagente Macofren® para detecção de H₂O₂ adicionado ao leite cru e UHT, nas concentrações de 0,005%, 0,01%, 0,03%, 0,05%, 0,5%, 0,1% e 1,0%, avaliados imediatamente após adição, 30 minutos e 24 horas após adição do H₂O₂. Apenas o teste Macofren© foi capaz de detectar a fraude em todos os tempos estudados, tanto no leite cru quanto no UHT, porém não foi possível quantificar o nível de fraude. O teste Guaiacol permitiu detectar a presença de H₂O₂ adicionado ao leite cru em todas as concentrações de adição, quando analisados imediatamente e 30 minutos após adição, porém, 24h após adição do H₂O₂, o teste foi eficiente apenas em adições superiores a 0,5%. No teste de Óxido de vanádio, em leite cru, observou-se que, com adição de 0,005%, em nenhum dos tempos estudados foi eficiente. Tal situação permaneceu ao avaliar a adição 0,01% no tempo de 24h após adição do H₂O₂. Já avaliando o leite UHT, com o óxido de vanádio as reações se mantiveram indetectáveis em baixas concentrações (0,005%). Os testes oficiais não apresentam eficiência para detecção em baixas concentrações em períodos maior ou igual a 24 horas. Já o teste Macofren© apresentou eficiência para a detecção de H₂O₂ em leite cru e UHT nas condições analisadas, porém ineficiente na quantificação da fraude como proposto pelo fabricante.

¹ Trabalho apresentado na área temática 1 – O profissional das Ciências Agrárias do XI Congresso Mineiro de Inovações Agropecuárias, realizado de 20 a 24 de novembro de 2018.

PALAVRAS-CHAVE: Macofren©. Guaiacol. Óxido de vanádio.

ABSTRACT: The NI number 62/2011 establishes the quality standards for raw and processed milk and prohibits the addition of any chemical substance for milk preservation. However, hydrogen peroxide (H_2O_2) has bactericidal action, so it is used by fraudsters to recover and conserve deteriorated milk, deriving from inadequate milking, storage and transport, where there were microbial contamination and growth in milk. This fraud is difficult to detect because, after reaction with the milk, the H_2O_2 turns into water quickly. Thus, the objective was to evaluate the conventional Guaiacol and vanadium oxide tests and the Macofren® reagent for detection of H_2O_2 added to raw and UHT milk, at concentrations of 0.005%, 0.01%, 0.03%, 0.05%, 0.5%, 0.1% and 1.0%, evaluated immediately after addition, 30 minutes and 24 hours after addition of H_2O_2 . Only the Macofren© test was able to detect the fraud at all times studied, both in raw and in UHT milk, but it was not possible to quantify the level of fraud. The Guaiacol test allowed to detect the presence of H_2O_2 added to raw milk in all concentrations of addition, when analyzed immediately and 30 minutes after addition, but 24 hours after addition of H_2O_2 , the test was efficient only in additions higher than 0.5%. In the vanadium oxide test, in raw milk, it was observed that, with the addition of 0.005%, it was not efficient in any of the studied times. This situation remained when evaluating the addition 0.01% in the 24-hour-time after addition of H_2O_2 . Already evaluating the UHT milk, with Vanadium oxide, the reactions remained undetectable at low concentrations (0.005%). The official tests do not show efficiency for detection at low concentrations in periods greater than or equal to 24 hours. The Macofren© test showed efficiency for the detection of H_2O_2 in raw and UHT milk under the conditions analyzed, but inefficient in the quantification of fraud as proposed by the manufacturer.

KEYWORDS: Macofren©. Guaiacol. Vanadium oxide.

INTRODUÇÃO

Segundo a Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011, entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite é um dos alimentos frequentemente envolvidos em fraudes (MOORE; SPINK; LIPP, 2012). De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), 2017, considera-se como leite fraudado aquele em que forem adicionados água, substâncias conservadoras ou quaisquer elementos diferentes à sua composição; aquele que sofrer subtração de qualquer dos seus componentes; aquele que estiver cru e for vendido como pasteurizado ou for exposto ao consumo sem as devidas garantias de inviolabilidade (BRASIL, 1997).

Há mais de uma década, já se registram práticas fraudulentas que podem ser utilizadas na tentativa de mascarar a má qualidade microbiológica do leite e suas decorrentes alterações físico-químicas. Além de controlar as alterações provocadas

pelos microrganismos, essas fraudes têm ainda como objetivo aumentar o volume e evitar prejuízos ao produtor (TRONCO, 2008).

Tal adição se dá pelo fato de o peróxido de hidrogênio possuir ação bactericida e, por isso, ser usado por fraudadores para recuperar e conservar leites deteriorados. Essa fraude é realizada em leites em que, durante seus processos de ordenha, armazenamento e transporte, não houve preocupação com boas condições de higiene, dessa forma ocorrendo contaminações e crescimento microbiano ao leite. Essa prática pode acarretar sérios riscos de saúde para o consumidor, pois a ingestão do leite fraudado prejudica a flora intestinal e, em altas concentrações, pode levar à morte. Esse tipo de prática fraudulenta é difícil de ser detectada, pois, após agir no leite, o peróxido de hidrogênio se transforma em água e sua reação ocorre de forma rápida (BONEFÁCIO, 2016). Tal fraude se justifica devido ao efeito antibacteriano e a sua função de dissimulação das más condições higiênico-sanitárias de obtenção, conservação e/ou transporte do leite. Entrando em contato com o leite, a degradação do peróxido de hidrogênio promove a oxidação da espécie química tiocianato (componente natural do leite) em outra espécie denominada hipotiocianato, que tem efeito antibacteriano, principalmente em bactérias gram-positivas (AUNE & THOMAS, 1978).

Sendo assim, é importante estipular o tempo em que se podem detectar resquícios de peróxido de hidrogênio para realizar a análise química laboratorial com mais confiabilidade. Apesar de a legislação determinar a pesquisa diária dessas substâncias, a avaliação do leite pelas indústrias geralmente é realizada apenas por análises físico-químicas como densidade e crioscopia. Contudo, essas fraudes muitas vezes são calculadas para impedir sua identificação por provas de rotina não específicas.

Assim como qualquer outro alimento comercializado no país, a qualidade do leite e de seus derivados é regulamentada pelos órgãos oficiais responsáveis por garantir a segurança alimentar da população (DURR, 2004). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o órgão responsável pela fiscalização da fabricação dos produtos de origem animal, incluindo o leite, conforme disciplina o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que estabelece a obrigatoriedade da prévia fiscalização, sob o ponto de vista industrial e sanitário, de todos dos produtos de origem animal, comestíveis e não comestíveis, sejam ou não adicionados de produtos vegetais, preparados, transformados, manipulados, recebidos, acondicionados, depositados e em trânsito.

A pesquisa de substâncias químicas adicionadas ao leite com o intuito de fraudar e mascarar a sua qualidade faz parte da rotina de análises para o controle de qualidade. A adição de peróxido de hidrogênio ao leite representa uma constante preocupação dos órgãos responsáveis pela fiscalização e pela garantia da saúde dos consumidores. A detecção de peróxido de hidrogênio por meio da metodologia convencional é demorada e laboriosa, exige vários equipamentos e vidrarias adequados, além de reagentes específicos. Um dos principais testes usados para a detecção do peróxido de hidrogênio, o Guaiacol é um composto orgânico de ocorrência natural com a fórmula $C_6H_4(OH)(OCH_3)$, uma substância oleosa, incolor e aromática, derivada do guaco ou do creosoto da madeira, especialmente da faia. O

Óxido de vanádio também é muito utilizado na rotina de testes por meio da solução de Óxido de vanádio (V₂O₅) a 1 % (m/v) em solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 6 % (v/v). Sendo assim, é importante estipular o tempo em que se podem detectar resquícios de peróxido de hidrogênio para realizar a análise química laboratorial com mais confiabilidade.

A fim de atender a demanda por agilidade e simplicidade no teste, recentemente lançou-se no mercado o teste rápido comercial Macofren[®]. Considerado um reagente qualitativo que detecta a presença de peróxido de hidrogênio no leite, em 20 segundos, a partir de reação colorimétrica, apresenta-se como uma ferramenta viável para indústrias e fiscalização, para análises de triagem do leite cru e UHT, facilitando e ajudando os órgãos responsáveis para o controle de qualidade.

Portanto, objetivou-se com esse trabalho avaliar testes convencionais (Guaiacol e Óxido de vanádio) e do reagente Macofren[®] para detecção de peróxido de hidrogênio em leite cru e UHT em diferentes tempos de fraude.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi submetido à aprovação do Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário de Patos de Minas e foi aprovado sob protocolo nº 116/18, de 04 julho de 2018. O trabalho foi realizado no Laboratório de Análises de Leite e Derivados (Lableite) da Faculdade de Agronomia e Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília, no mês de julho de 2018.

Na Tabela 1, estão descritos os tratamentos realizados; a solução inicial do tratamento (T₀) era composta somente por leite cru e UHT (controle negativo), e as concentrações 0%, 0,005%, 0,01%, 0,03%, 0,05%, 0,5%, 0,1%, 0,5 % e 1,0% de peróxido de hidrogênio adicionadas ao leite cru e UHT corresponderam aos tratamentos T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆, T₇, T₈, respectivamente. Os volumes de peróxido de hidrogênio foram obtidos por meio da fórmula: $C_{inicial} \cdot V_{inicial} = C_{final} \cdot V_{final}$, onde: C = concentração e V= volume.

Tabela 1 – Tratamentos experimentais

| Tratamentos | Diluição | SOLUÇÃO LEITE + H ₂ O ₂ |
|----------------|----------|---|
| T ₁ | 0% | 225mL de leite (controle negativo) |
| T ₂ | 0,005% | 224,97 ml de leite + 0,03 ml de H ₂ O ₂ . |
| T ₃ | 0,01% | 224,94 ml de leite + 0,06 ml de H ₂ O ₂ . |
| T ₄ | 0,03% | 224,82 ml de leite + 0,18 ml de H ₂ O ₂ . |
| T ₅ | 0,05% | 224,70 ml de leite + 0,30 ml de H ₂ O ₂ . |
| T ₆ | 0,1% | 224,40 ml de leite + 0,60 ml de H ₂ O ₂ . |
| T ₇ | 0,5% | 221,96 ml de leite + 3,04 ml de H ₂ O ₂ . |
| T ₈ | 1,0% | 218,92 ml de leite + 6,08 ml de H ₂ O ₂ . |

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio.

O leite cru foi coletado diretamente do tanque de resfriamento, da Fazenda Escola Água Limpa, (FAL/UnB), acondicionado em recipiente estéril, identificado e transportado em caixa isotérmica até o Laboratório de Análises de Leite e Derivados

(Lableite) da Faculdade da Agronomia e Veterinária (FAV) da UnB.

Após a preparação do leite, foram realizadas análises físico-químicas para determinação dos teores de proteínas, gordura, lactose, densidade e sólidos não gordurosos, utilizando o equipamento ultrassônico EKOMILK® no leite UHT para a confirmação da rotulagem. A acidez pelo método Dornic foi avaliada conforme o que preconiza a Instrução Normativa nº 68/2006. Os resultados dessas análises, descritos na Tabela 2, confirmaram que o leite estava apto para a utilização no estudo.

Tabela 2 – Resultado da análise

| | EKOMILK® | Valores de referência IN 68 |
|------------------------|----------|-----------------------------|
| Gordura | 3,22 % | Min 3% |
| Sólidos não-gordurosos | 9,41% | Min 8,5% |
| Proteínas | 3,44% | Min 2,9% |
| Lactose | 5,24% | Min 4,3//5 |

Todos os tratamentos foram submetidos à metodologia convencional em três repetições e o mesmo ao teste rápido. A metodologia convencional utilizada é estabelecida pela Instrução Normativa nº 68/2006, conforme descrito a seguir.

Guaiacol sob solução hidroalcoólica de 1% (50 ml) adicionado a 10 ml de álcool etílico e deixado em banho-maria a aproximadamente 35 ± 2 ° C, onde foram misturados 2 ml da solução em 2 ml de leite cru e UHT fraudado com peróxido de hidrogênio, apresentando a coloração salmão para os resultados positivos para a fraude.

Óxido de vanádio sob a solução a 1% em solução de ácido sulfúrico a 6%, onde pipetou seis gotas em uma amostra de 10 ml de leite cru e UHT fraudado, apresentando a coloração marrom escuro para os resultados positivos.

Macofren feito pelas tiras colorimétricas, colocando em contato com as amostras por dez segundos, onde, se positivo, as tiras apresentavam a coloração verde.

Os testes foram avaliados em três diferentes tempos: 0 hora, 30 minutos e 24 horas após a adição do peróxido de hidrogênio.

As variações de tempo escolhidas reproduziram os tempos de armazenamento em temperatura de refrigeração permitido na propriedade e na indústria. A Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011) estabelece que seja realizado o resfriamento prévio do leite na propriedade, anterior ao beneficiamento e que a estocagem em refrigeração pode ser por no máximo 48 horas. E ao chegar à indústria, dependendo do fluxograma, o leite é armazenado por períodos que chegam a mais 48 horas, totalizando um período máximo de estocagem antes do tratamento de 96 horas.

Os dados referentes nesta pesquisa foram analisados de forma descritiva e comparativa com o resultado previsto na Instrução Normativa nº 62/2011 – MAPA

(BRASIL, 2011) avaliando a eficiência de detecção dos testes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no teste para detecção do peróxido de hidrogênio no leite cru estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados dos testes para detecção de diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) no leite cru

| Tempo | Método | Concentrações de adição de peróxido de hidrogênio (%) | | | | | | | |
|-------------|------------------|---|-------|------|------|------|-----|-----|-----|
| | | (C -) | 0,005 | 0,01 | 0,03 | 0,05 | 0,1 | 0,5 | 1,0 |
| 0 h | Guaiacol | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | Óxido de vanádio | + | - | + | + | + | + | + | + |
| | Macofren© | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 30 min | Guaiacol | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | Óxido de vanádio | + | - | + | + | + | + | + | + |
| | Macofren© | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 24 h | Guaiacol | + | - | - | - | - | - | + | + |
| | Óxido de vanádio | + | - | - | + | + | + | + | + |
| | Macofren© | + | + | + | + | + | + | + | + |
| IN 62, 2011 | | + | + | + | + | + | + | + | + |

* + (resultado positivo para presença de peróxido de hidrogênio); - (resultado negativo para presença de peróxido de hidrogênio); C- (controle negativo).

Por se tratar de uma metodologia que busca praticidade para aplicação, a avaliação dos resultados consistiu na visualização da coloração resultante da reação entre o produto Macofren® e amostras fraudadas em laboratório usando os testes oficiais, mimetizando uma situação real em que o responsável pela análise dispõe dos reagentes específicos.

Os resultados obtidos no primeiro experimento demonstraram a persistência do peróxido de hidrogênio adicionado ao leite cru e UHT refrigerado nos tempos avaliados em 0 hora e em 30 minutos.

Apenas o teste Macofren© foi capaz de detectar a fraude em todos os tempos estudados. Ao se avaliarem os resultados observados nas análises com o teste Guaiacol em leite cru, pode-se observar eficiência nos resultados considerando o tempo 0 hora e o tempo 30 minutos de fraude. Porém, ao avaliar a fraude em 24 h, situação com a qual o consumidor se depara, apenas foi possível a detecção em igual ou superior a concentrações de 0,5% de peróxido de hidrogênio. A falha da detecção em concentrações inferiores a 0,5% pode se justificar pela ação da enzima peroxidase presente naturalmente no leite, que possivelmente inativou os baixos níveis de peróxido de hidrogênio. Já em maiores concentrações provavelmente a peroxidase

não foi capaz de dissociar o H₂O₂.

Nas análises com o teste óxido de vanádio, observou-se que, na fraude por adição de 0,005%, de H₂O₂, em nenhum dos tempos estudados o método foi eficiente. Tal situação permaneceu ao avaliar o nível de fraude de 0,01% no tempo de 24 h após adição do H₂O₂. Possivelmente, nesses níveis a enzima peroxidase pode ter neutralizada a presença do H₂O₂.

Os resultados encontrados nos teste para detecção do peróxido de hidrogênio no leite UHT estão descritos na Tabela 4.

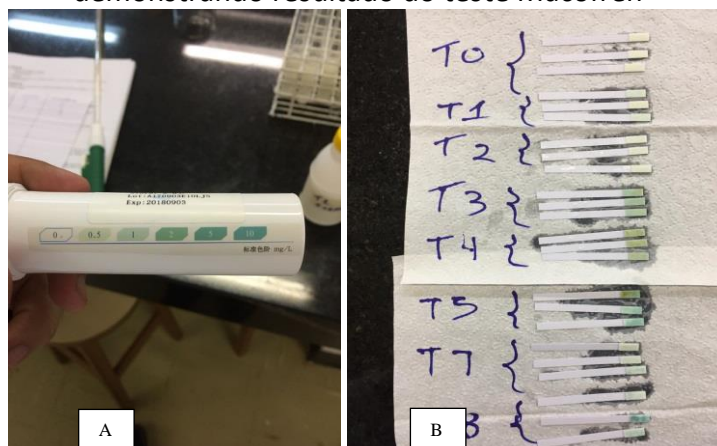
Tabela 4 – Resultados dos testes para detecção de diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) no leite UHT

| Tempo | Método | Concentrações de adição de peróxido de hidrogênio (%) | | | | | | | |
|-------------|------------------|---|-------|------|------|------|-----|-----|-----|
| | | (C-) | 0,005 | 0,01 | 0,03 | 0,05 | 0,1 | 0,5 | 1,0 |
| 0 h | Guaiacol | + | - | - | - | - | - | - | - |
| | Óxido de vanádio | + | - | + | + | + | + | + | + |
| | Macofren© | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 30 min | Guaiacol | + | - | - | - | - | - | - | - |
| | Óxido de vanádio | + | - | + | + | + | + | + | + |
| | Macofren© | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 24 h | Guaiacol | + | - | - | - | - | - | + | + |
| | Óxido de vanádio | + | - | + | + | + | + | + | + |
| | Macofren© | + | + | + | + | + | + | + | + |
| IN 62, 2011 | | + | + | + | + | + | + | + | + |

Os dados obtidos na Tabela 4 demonstraram que a análise pelo guaiacol apresentou resultados falso-negativos em quase todos os tratamentos avaliados com leite UHT, em que o resultado esperado de acordo com a Instrução Normativa nº 62/2003 era positivo para a presença do peróxido de hidrogênio, mesmo nos menores tempos.

Na análise com o óxido de vanádio, as reações se mantiveram constantes e sem detecção em baixas concentrações (0,005%). Por outro lado, as tiras Macofren© foram capazes de detectar novamente a presença de H₂O₂ em todos os tratamentos e tempos avaliados. Porém, de acordo com a Figura 1, as tiras resultantes do teste não apresentaram coloração esperada pela escala de cor do fabricante presente no rótulo do reagente Macofren® – a escala do rótulo tem por finalidade quantificar de acordo com a coloração da fita a quantidade de peróxido de hidrogênio presente na amostra avaliada. Dessa forma, para maior segurança dos dados e confiança no teste, faz-se necessária uma adequação nas escalas de cores do produto, a fim de atender seu objetivo inicial: detectar e quantificar a fraude em leite por adição de peróxido de hidrogênio H₂O₂.

Figura 1 – A) Escala de cor proposta pelo fabricante do reagente Macofren®. B) Fitas demonstrando resultado do teste Macofren®



A – Escala colorimétrica do fabricante. B – Despadronização das cores na fita

A adição de substâncias que inibem o desenvolvimento de microrganismos no leite cru representa um problema para a indústria de laticínios, inviabilizando a produção de derivados na qual é necessário o uso de culturas lácticas. Segundo Simonaggio *et al.* (2014), essa fraude é difícil de ser detectada, pois, após agir no leite, o peróxido de hidrogênio se transforma em água e sua reação ocorre de forma rápida. Sendo assim, é importante estipular o tempo em que se podem detectar resquícios de peróxido de hidrogênio para realizar a análise química laboratorial com mais confiabilidade.

Os testes diagnósticos para detecção de fraude são de suma importância, e sua aplicação incorporada em toda a cadeia produtiva proporciona maior segurança, desde o momento em que o leite é coletado na propriedade rural até a saída como produto final, sendo necessário um processo de produção cada vez mais controlado (FIRMINO *et al.*, 2010).

Devido ao aumento das descobertas de fraude no leite, é de responsabilidade dos estabelecimentos o controle rigoroso da qualidade da matéria-prima recebida diariamente na sua indústria, por meio de análises prescritas nos termos da Instrução Normativa nº 62/2011 – MAPA (BRASIL, 2011), legislação em vigor. No entanto, comumente as análises oficiais possuem baixo rendimento analítico e necessidade de mão de obra especializada, o que dificulta que estas sejam aplicadas a toda matéria-prima que chega à indústria. Há a necessidade de aperfeiçoamento de testes rápidos, práticos e eficientes que possam vir a compor os testes oficiais recomendados pelos órgãos de inspeção e fiscalização de alimentos.

A detecção da adição fraudulenta de peróxido de hidrogênio é de extrema importância, visto que se trata de uma substância tóxica, mesmo em baixas concentrações, implicando alto risco à saúde do consumidor e representando significativos prejuízos à indústria de laticínios.

CONCLUSÃO

O teste do Guaiacol para a detecção de H₂O₂ adicionado no leite é ineficaz, não devendo ser realizado para esse propósito, pois o teste se apresentou eficiente apenas no tempo de zero hora e no de 30 minutos de fraude – assim o consumidor ou a empresa responsável pelo beneficiamento do leite não vão se deparar com a fraude. A análise oficial com o óxido de vanádio não apresenta eficiência para detecção em baixas concentrações de peróxido de hidrogênio em períodos menores ou iguais a 24 horas, sendo que no Brasil é estritamente proibida a adição de qualquer quantidade do peróxido para tratamento em leite. E por final o teste proposto pela Macofren® apresentou eficiência para a detecção de H₂O₂ em leite cru e UAT nas condições analisadas nessa pesquisa, porém ineficiente na quantificação da fraude em concentrações de acordo com a escala colorimétrica apresentada no rótulo das tiras.

REFERÊNCIAS

AUNE, T. M.; THOMAS, E. L. Accumulation of hypothiocyanate ion during peroxidase catalysed oxidation of thiocyanate ion. *European Journal of Biochemistry*, 17:1005-10, 1978.

BONEFÁCIO, S. M. B. A. *Resíduos de formol em leite cru: interferência de outras substâncias químicas na detecção e efeitos sobre a microbiota*. 2016. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 451, 19 de setembro de 1997. Regulamentos técnicos. Princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 22 set. 1997. Seção 1, p. 21005-210112.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 20 de setembro de 2011. *Diário Oficial da União*, 30 dez. 2011. Seção 1, p.6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. Secretaria de Defesa Agropecuária. *Diário Oficial da União*, Brasília, 14 de dez. de 2006. Seção 1, p. 8.

DURR, J. W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DURR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. *O compromisso com a qualidade do leite*. Passo Fundo: Editora UPF, 2004, v.1, p. 38-55.

FIRMINO, F. C.; TALMA, S. V.; MARTINS, M. L.; LEITE, M. O.; MARTINS, A. D. O. Detecção de fraudes em leite cru dos tanques de expansão da região de Rio da Poma-MG. *Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”*, Set/Out, nº 376, 65: 5-11,

2010, p. 5.

MOORE, J. C; SPINK, J.; LIPP, M. Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 77, n. 4, p.118-126, 2012.

SIMONAGGIO, D. *et al. Avaliação da eficiência da detecção da fraude por adição de peróxido de hidrogênio no leite*, 2014. XXIV Seminário de Iniciação científica – Universidade de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul.

TRONCO, V. M. Conceitos fundamentais. In 62. *Manual para Inspeção da Qualidade do Leite*. 3. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2008. p. 11- 38.