

UTILIZAÇÃO DA β -GALACTOSIDASE PARA PREVENÇÃO DA CRISTALIZAÇÃO EM DOCE DE LEITE

Use of β -galactosidase in milk sweet: avoiding lactose crystallization

Manuela Poletto Klein¹, Erna Vogt de Jong², Jean Philippe Palma Révillion²

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito da utilização da enzima β -galactosidase sobre a cristalização da lactose no doce de leite. As concentrações de lactase testadas variaram de 0 a 0,4 g/L. O grau de cristalização do produto foi avaliado sensorialmente (teste de ordenação em função de uma escala específica), após 30, 60, 90 e 180 dias de armazenamento à temperatura ambiente, por provadores previamente treinados. O teste de ordenação indicou não haver diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre as amostras em relação à cristalização, tanto aos 30 quanto aos 60 dias de armazenamento, porém aos 90 e 180 dias essa diferença foi significativa entre o controle (T0) e os tratamentos. A utilização de 0,2 g/L de β -galactosidase (23,16% de hidrólise da lactose) foi suficiente para que a arenosidade no doce de leite não fosse percebida sensorialmente pelos provadores, durante todo o período considerado.

Termos para indexação: Lactose, análise sensorial, arenosidade, hidrólise.

ABSTRACT

The effect of using β -galactosidase on the crystallization of lactose in milk sweet has been studied. The concentrations of lactase ranged from 0 to 0.4 g/L of processed milk. The product was subjected to sensorial analysis (crystallization degree ranking test using a specific scale) by trained tasters after 30, 60, 90 e 180 days of storage. The ranking test showed no statistically significant difference between the samples in relation to crystallization, both at 30 and 60 days of storage, but at 90 and 180 days the difference was significant among control (T0) and the treatments. Usage of 0.2 g/L of β -galactosidase (23.16% lactose hydrolysis in milk) was enough to prevent sandiness in milk sweet from being noticed throughout the studied period.

Index terms: Lactose, sensorial analysis, sandiness, hydrolysis.

(Recebido em 12 de janeiro de 2009 e aprovado em 3 de novembro de 2009)

INTRODUÇÃO

Doce de leite é o produto, com ou sem adição de outras substâncias alimentícias, obtido por concentração e ação do calor à pressão normal ou reduzida do leite ou leite reconstituído, com ou sem adição de sólidos de origem láctea e/ou creme e adicionado de sacarose (parcialmente substituída ou não por monossacarídeos e/ou outros dissacarídeos) (Brasil, 1997). O produto apresenta coloração escura e sabor peculiar devido à várias reações que ocorrem durante o processo, como por exemplo, a Reação de Maillard que está relacionada com a intensidade do tratamento térmico aplicado (Feihmann, 2004).

Logo ao final do processamento, o doce de leite constitui-se numa solução em que a lactose encontra-se em estado de supersaturação. A concentração para a fabricação do doce de leite reduz, em cerca de 2,5 vezes, o volume inicial da mistura leite e açúcar, e assim, a relação final lactose/água ultrapassa a faixa de saturação (Martins & Lopes, 1981). Nessas condições, portanto, é inevitável que ocorra a cristalização da lactose devido à sua baixa solubilidade aliada à adição de

sacarose em uma solução supersaturada de lactose, em que ocorre agitação e resfriamento (Santos et al., 1977).

Minimizar os efeitos da cristalização de maneira a evitar o aparecimento de *arenosidade*, resultante da formação de grandes cristais de lactose, figura entre as principais dificuldades técnicas que existem na fabricação do doce de leite (Silva et al., 1984).

As modificações tecnológicas visando eliminar o defeito da arenosidade em doce de leite têm sido avaliadas com o emprego de escalas sensoriais ou através da determinação microscópica do tamanho dos cristais formados (Martinez et al., 1990). Hough et al., (1990) observaram que cristais de tamanho menor que 6μ de diâmetro não são percebidos sensorialmente mesmo que toda a lactose presente no doce de leite esteja cristalizada. Já cristais maiores que 6μ contribuem com a percepção sensorial da textura arenosa dependendo do número em que estão presentes no produto.

Para solucionar esse problema, tem sido proposta a redução da concentração relativa de lactose, a adição de

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul/UFRGS – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos/ICTA – Avenida Bento Gonçalves – 9500 – Agronomia – Prédio 43212 – 91540 – Cx. P. 15090-000 – Porto Alegre, RS – manupklein@gmail.com

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul/UFRGS – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos/ICTA – Porto Alegre, RS

caseinato de sódio, a indução da cristalização da lactose por semeadura de microcristais de lactose e a hidrólise enzimática da lactose por β -galactosidase (HOSKEN, 1969; SOUSA et al., 1982; MARGAS et al., 1982; SILVA et al., 1984).

A enzima β -galactosidase (E.C. 3.2.1.23) é responsável pela hidrólise de ligações β -galactosídicas, como as que estão presentes na lactose. O resultado dessa hidrólise é uma molécula de glicose e outra de galactose, que são açúcares que possuem um maior poder adoçante, são mais facilmente digeridos e, além disso, são mais solúveis quando comparados à lactose e, por este motivo, menos propensos à cristalização (Gekas & López-Leiva, 1985; Grosová et al., 2008).

Objetivou-se, neste estudo, avaliar o efeito do grau de hidrólise da lactose no leite, utilizando a enzima β -galactosidase, em diferentes concentrações, sobre a cristalização da lactose no doce de leite, percebida sensorialmente, durante seu período de armazenamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no ano de 2007 em uma cooperativa de laticínios da região serrana do Rio Grande do Sul que processa industrialmente o doce de leite. Foi utilizado leite pasteurizado, padronizado em 3% de gordura e ingredientes opcionais e aditivos usualmente empregados. A enzima utilizada nesse estudo foi um preparado de lactase (β -D-galactosidase galactohidrolase EC 3.2.1.23), conhecida comercialmente como LactoMax 530, com atividade entre 50000 a 53000 ONPGU (o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside units) por grama, obtida a partir da levedura *Kluyveromyces lactis*.

Uma parcela homogênea de 100 litros de leite pasteurizado foi dividida em cinco porções de 20 litros que receberam a adição da enzima. Na matéria-prima foram realizadas análises físico-químicas usuais como pH, acidez titulável, densidade a 15° C, gordura e extrato seco total para confirmação do padrão de qualidade adequado e de acordo com a Instrução Normativa nº 51/2002 (Brasil, 2002).

As concentrações de β -galactosidase foram definidas através de ensaios prévios de hidrólise enzimática da lactose, em que foram testados diferentes níveis de concentração da enzima no leite. Nesses ensaios prévios, foi testado, além da concentração da enzima, o binômio tempo e temperatura, com o objetivo de atingir grau de hidrólise da lactose entre 10% e 40%, conforme indicado por Silva et al. (1984) e pelo fabricante da enzima, respectivamente.

Para a hidrólise enzimática da lactose, foram utilizadas as seguintes concentrações da enzima no leite: 0, 0,1, 0,2, 0,3 e 0,4g/L, caracterizando os tratamentos T0, T1, T2, T3 e T4, respectivamente. A cada trinta minutos agitava-se a mistura

para que esta fosse mantida em condições homogêneas. Ao final das cinco horas de hidrólise, procedeu-se imediatamente à fabricação do doce de leite. Devido às restrições de um ensaio industrial, não foi possível realizar repetições desses tratamentos, porém, cabe ressaltar que os resultados obtidos nos ensaios prévios de hidrólise foram idênticos aos obtidos no experimento.

A hidrólise da lactose foi determinada aplicando-se a correlação crioscopia versus porcentagem de hidrólise (Equação 1), segundo Prozyn (2007).

$$\% \text{ Hidrólise alcançada} = 350,877 \cdot (\text{Crioscopia final}) - \frac{(\text{Crioscopia inicial})}{0,00285} \quad (1)$$

Análises de crioscopia, determinadas pela medida direta em crioscópio eletrônico digital, marca ITR, modelo MK 540, Brasil, de acordo com Instrução Normativa nº. 68/06 (Brasil, 2006) foram realizadas em intervalos de 1 hora até 5 horas. O grau de hidrólise final, considerando-se a quantidade de enzima utilizada, foi avaliado após 5 horas de hidrólise. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

A fabricação do doce de leite seguiu o processo usualmente empregado na Cooperativa, semelhante ao proposto por Martins & Lopes (1981): i) correção da acidez do leite pasteurizado a 13°D com bicarbonato de sódio, ii) aquecimento até 60° C, iii) adição de ingredientes (2,75% de glicose de milho Glucogill 4380, 20% de açúcar refinado Alto Alegre, 0,5% de amido de mandioca Pinduca), iv) concentração da mistura até 71°Brix por aquecimento gradativo do leite, sob agitação constante, em tachos abertos de dupla-camisa com vapor, v) resfriamento até 60° C, vi) embalagem em potes plásticos e estocagem à temperatura ambiente.

O teste de ordenação foi realizado aos 30, 60, 90 e 180 dias de estocagem do produto para avaliar o grau de cristalização das diferentes formulações de doce de leite. Os testes foram realizados por provadores previamente treinados. Selecionaram-se seis candidatos entre os funcionários da empresa, em função do interesse, disponibilidade, e capacidade de reconhecer características sensoriais em doces de leite, proveniente do consumo regular desse produto (Dutcosky, 1996). Os candidatos foram treinados com o objetivo de reconhecer o grau de cristalização nas diferentes amostras de doce de leite, segundo a seguinte escala (Margas et al., 1982): 1. sem cristalização; 2. ligeiramente cristalizado; 3. moderadamente cristalizado; 4. excessivamente cristalizado. Assim, quatro amostras de doces de leite foram empregadas, considerando seu tempo de vida útil, seu aspecto visual e textura (grau de arenosidade), para exemplificar as diferentes categorias

de cristalização. Os candidatos foram convidados a provar, identificar e ordenar as amostras de acordo com a escala apresentada. Todos verbalizaram suas opiniões e chegaram ao mesmo consenso: as amostras com maior vida de prateleira e maior grau de cristalização foram identificadas, de forma hierárquica, como as de maior arenosidade.

Para a realização da análise sensorial aos 30, 60, 90 e 180 dias de armazenamento, cinco amostras do produto, correspondentes aos tratamentos T0, T1, T2, T3 e T4, foram servidas em copos plásticos, com quantidades padronizadas (25 g), devidamente codificadas e distribuídas aleatoriamente (Dutcosky, 1996). Foi fornecido água e biscoito “água e sal”, para limpeza do paladar entre as avaliações das amostras.

Os dados da análise sensorial foram analisados estatisticamente por análise de variância (fator duplo sem repetição) e teste de Tukey, para comparação de médias ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os valores médios de pH, acidez, densidade, gordura e extrato seco total do leite pasteurizado, utilizado para o processamento dos doces de leite.

Tabela 1 – Características físico-químicas da matéria-prima*.

Análise	Leite Pasteurizado
pH	6,6 ± 0
Acidez Titulável (g ácido láctico/100mL leite)	0,17 ± 0
Densidade (g/mL)	1,031 ± 0
Gordura (%)	3,0 ± 0
Extrato Seco Total (%)	11,61 ± 0

*Valores relativos à média dos resultados das análises do leite utilizado nos processamentos de doce de leite, analisados em duplicatas.

É possível observar que o leite pasteurizado utilizado para a fabricação dos doces de leite apresentou os resultados das análises físico-químicas conforme os padrões exigidos pela Instrução Normativa nº. 51/02 (Brasil, 2002), caracterizando assim uma matéria-prima de boa qualidade.

Como as amostras de leite foram provenientes do mesmo tanque e coletadas na mesma hora, suas características físico-químicas apresentaram homogeneidade, como era de se esperar. Portanto, não houve variação nas características da matéria-prima que pudesse comprometer a avaliação da influência da adição da enzima nos doces de leite obtidos.

A porcentagem de hidrólise da lactose foi determinada aplicando-se a correlação crioscopia versus porcentagem de hidrólise (Equação 1). Os graus de hidrólise assim obtidos, em função das diferentes concentrações de lactase, são apresentados na Figura 1, considerando-se os resultados ao final de 5 horas de hidrólise.

A curva de hidrólise construída apresentou comportamento linear ($R^2 = 0,9939$) dentro da faixa de concentração estudada, demonstrando a existência de proporcionalidade entre a concentração de enzima e a porcentagem de hidrólise. Nesse caso, quanto maior a concentração da enzima no leite, maior o grau de hidrólise da lactose.

Longo & Waszczyński (2006) também obtiveram boa correlação entre concentração de lactase e grau de hidrólise em uma curva construída para o desenvolvimento de iogurtes, sendo que a concentração de 0,8 g/L de enzima lactase adicionada diretamente ao leite a 40° C, por um período de 4 horas promoveu 88,07% de hidrólise do leite.

No presente trabalho, as concentrações de 0,1, 0,2, 0,3 e 0,4 g/L de β -galactosidase adicionada diretamente ao leite a 6±1° C, por um período de 5 horas, promoveram 12,98%, 23,16%, 31,93% e 41,4% de hidrólise, respectivamente. Cabe ressaltar que se houvesse aumento

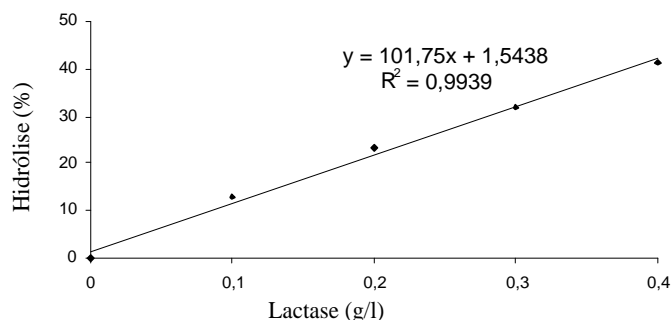


Figura 1 – Porcentagem de hidrólise da lactose em leite pasteurizado, após 5 horas, em função de diferentes concentrações de enzima β -galactosidase.

da temperatura durante a reação enzimática, maiores taxas de hidrólise seriam alcançadas, uma vez que a enzima utilizada, proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis*, apresenta temperatura ótima de hidrólise em torno de 37° C (Goddard et al., 2007).

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise estatística do teste ordenação do grau de cristalização realizado nos doces de leite.

Em relação à cristalização dos doces de leite, após 30 e 60 dias de armazenamento, tanto o controle, quanto os doces elaborados com leite tratado com enzima, comportaram-se da mesma maneira. A análise das médias do teste de cristalização indicou não haver diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$), ou seja, a cristalização do doce de leite não foi percebida sensorialmente, num período de até 60 dias.

Tal fenômeno pode ser explicado, já que a cristalização da lactose em solução saturada desse açúcar não ocorre imediatamente, pois o mecanismo de formação dos cristais ocorre de maneira inversa à solubilização, ou seja, a α -lactose menos solúvel, cristaliza-se primeiro na forma de mono-hidrato. Concomitantemente, para que o equilíbrio entre as formas permaneça, há inversão da forma β - para a α , que se cristaliza imediatamente. O processo continua até que todo o excesso de lactose dissolvida em solução se cristalice sob a forma de α -mono-hidrato (Veisseyre, 1988). Segundo Freyer (1972), o defeito da cristalização só se torna aparente após 45 dias de estocagem do produto porque a conversão da α -lactose para a β -lactose, responsável pela formação de cristais grandes, é um processo moroso, dificultado pela viscosidade do doce.

De fato, aos 90 dias de estocagem, o tratamento controle foi estatisticamente diferente de todas as demais amostras, apresentando-se excessivamente cristalizado na avaliação sensorial ($P > 0,05$). O doce de leite T1 também diferiu dos demais ($P > 0,05$), estando entre ligeiramente e moderadamente cristalizado. Já os doces de leite tratados

com 0,2, 0,3 e 0,4 g/L de enzima não apresentaram diferença estatística significativa entre si. Da mesma forma, aos 180 dias de estocagem, a amostra T0 apresentou a maior média, e, portanto o maior grau de cristalização, os tratamentos T2, T3 e T4 apresentaram as menores médias e, portanto, os menores graus de cristalização e a amostra T1 apresentou média intermediária, sendo percebido sensorialmente como moderadamente cristalizado.

Com o objetivo de avaliar a eficiência do tratamento de menor dosagem de enzima (e com média relativamente baixa), durante todo o período estudado, realizou-se a análise estatística das médias das notas da análise sensorial do doce de leite T2. A análise mostrou não haver diferença estatística significativa entre as notas, sendo que o valor médio geral foi $1,17 \pm 0,26$. Dessa forma, a utilização do tratamento T2 (0,2 g/L), que correspondeu a uma taxa de hidrólise da lactose no leite de 23,16%, a $6 \pm 1^\circ \text{C}$, durante 5 horas, foi suficiente para que a cristalização da lactose no doce de leite fosse minimizada a ponto de não ser sensorialmente percebida pelos provadores, dentro de um período de até 180 dias, que corresponde à vida de prateleira do produto.

De acordo com o presente estudo, é possível utilizar outras combinações entre tempo de hidrólise e concentração de enzima, desde que a taxa de hidrólise da lactose fique próxima de 23,16%, a qual foi comprovada como eficaz para evitar a arenosidade, percebida sensorialmente, no doce de leite, durante o período em questão. De acordo com o gráfico da Figura 2, que correlaciona o grau de hidrólise em função do tempo para as diferentes concentrações de enzima testadas, pode-se observar que a concentração de 0,3 g/L de enzima adicionada ao leite, a $6 \pm 1^\circ \text{C}$, durante 3 horas, promoveu 23,5% de hidrólise da lactose. Igualmente, a utilização de 0,4 g/L da enzima no leite, a $6 \pm 1^\circ \text{C}$ durante 2 horas, seria suficiente para evitar a cristalização da lactose durante 180 dias, já que o grau de hidrólise atingido por essa combinação foi de 23,68%.

Tabela 2 – Médias do grau de cristalização obtidas através do teste de ordenação das amostras dos doces de leite aos 30, 60, 90 e 180 dias de estocagem.

Produto	Média* (30 dias)	Média* (60 dias)	Média* (90 dias)	Média* (180 dias)
Doce de Leite T0	1,17 ^a \pm 0,41	1,33 ^a \pm 0,52	3,67 ^a \pm 0,52	4 ^a \pm 0
Doce de Leite T1	1,17 ^a \pm 0,41	1,55 ^a \pm 0,55	2,67 ^b \pm 0,52	2,83 ^b \pm 0,41
Doce de Leite T2	1 ^a \pm 0	1 ^a \pm 0	1,33 ^c \pm 0,52	1,33 ^c \pm 0,52
Doce de Leite T3	1 ^a \pm 0	1 ^a \pm 0	1,17 ^c \pm 0,41	1,17 ^c \pm 0,41
Doce de Leite T4	1 ^a \pm 0	1 ^a \pm 0	1 ^c \pm 0	1,17 ^c \pm 0,41

*Valores com letras iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

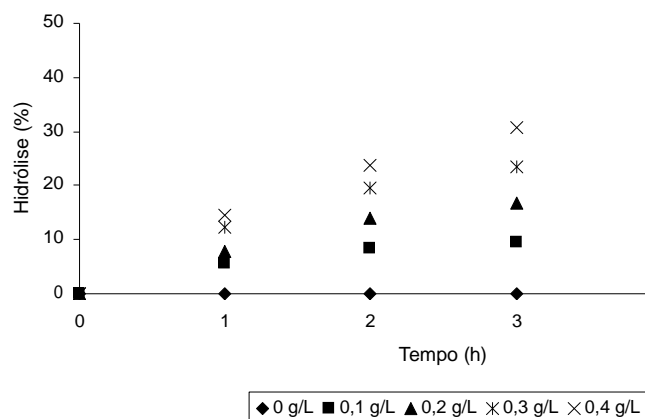


Figura 2 – Porcentagem de hidrólise da lactose em leite pasteurizado para diferentes concentrações de enzima β -galactosidase, em função do tempo.

Resultados semelhantes foram obtidos por Silva et al. (1984), que ao empregarem a enzima β -galactosidase em dosagem entre 20 a 60 mg/L de leite, obtiveram um aumento do grau de hidrólise da lactose de 7,1 a 28%, respectivamente. Dentro dessa faixa, a utilização de 40 mg/L da enzima resultou em um doce de leite com características de coloração, textura, sabor e aroma similares ao produto tradicional, não apresentando defeito de arenosidade com 90 dias de estocagem.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho, baseados em dados de análise sensorial, demonstraram a eficiência da hidrólise enzimática da lactose no controle da cristalização do doce de leite. Entre as diferentes concentrações de enzima testadas, o nível de 0,2 g/L, que promoveu 23,16% de hidrólise da lactose, foi suficiente para prevenir a arenosidade do produto durante toda sua vida de prateleira. Tais resultados devem ser considerados dentro dos parâmetros de hidrólise utilizados no experimento (temperatura de $6 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 5 horas), ou seja, variando esses fatores é de se esperar resultados diferentes daqueles obtidos. Finalmente, é importante sugerir que novas pesquisas sejam realizadas sobre os fatores e/ou tratamentos aplicáveis no doce de leite de maneira a evitar a formação de arenosidade, valendo-se, em particular, de análises físico-químicas e de microscopia ótica e/ou eletrônica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº. 354. Regulamento técnico Mercosul para fixação de identidade e qualidade de doce de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 set. 1997. Seção 1, p.19685.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº. 51. Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set. 2002. Seção 1, p.13.

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

FEIHRMANN, A.C. Doce de leite: revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.118, p.21-23, mar. 2004.

FREYER, J. **Fabricação de doce de leite**: primeiro curso de capacitação em indústria leiteira. Montivideu: FAO, 1972. 27p.

GEKAS, V.; LÓPEZ-LEIVA, M. Hydrolysis of lactose: a literature review. **Process Biochemistry**, New York, v.20, p.2-12, Feb. 1985.

GODDARD, J.M.; TALBERT, J.N.; HOTCHKISS, J.H. Covalent attachment of lactase to low-density polyethylene films. **JFS E: Food Engineering and Physical Properties**, v.72, n.1, p.36-41, 2007.

GROSOVÁ, Z.; ROSENBERG, M.; REBROŠ, M. Perspectives and applications of immobilised β -galactosidase in food industry: a review. **Czech Journal of Food Sciences**, v.26, n.1, p.1-14, 2008.

- HOSKEN, F.S. Doce de leite: durabilidade e cristalização. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.24, n.147, p.10-17, nov./dez. 1969.
- HOUGH, G.; MARTINEZ, E.; CONTARINI, A. Sensory and objective measurement of sandiness in dulce de leche, a typical Argentine dairy product. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.3, p.604-611, Mar. 1990.
- LONGO, G. **Influência da adição de lactase na produção de iogurtes**. 2006. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- MARGAS, M.M.; COELHO, D.T.; CHAVES, J.B.P.; MARTYN, M.E.L. Influência da gordura, da glicose e do amido na cristalização do doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.37, n.221, p.25-29, maio/jun. 1982.
- MARTINEZ, E.; HOUGH, G.; CONTARINI, A. Sandiness prevention in dulce de leche by seeding with lactose microcrystals. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.3, p.612-616, Mar. 1990.
- MARTINS, J.F.P.; LOPES, C.N. Doce de leite: aspectos da tecnologia de fabricação. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.18, p.1-37, 1981.
- PROZYN. **Prozyn lactase**. São Paulo, 2007. 5p. Informação técnica.
- SANTOS, D.M.; MARTINS, J.F.P.; SANTOS, N.C. Arenosidade e outros problemas do doce de leite. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.52, p.61-80, jul./ago. 1977.
- SILVA T.J.P.; PINHEIRO, A.J.R.; COELHO, D.T.; PEREIRA, A.S.; CHAVES, J.B.P. Utilização da beta-D-galactosidase no processo contínuo de fabricação de doce de leite homogeneizado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.39, n.232, p.19-30, 1984.
- SOUSA, L.R.P.; SILVA, T.J.P.; PINHEIRO, A.J.; CHAVES, J.B.P. Efeito da adição de caramelo na qualidade do doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.37, n.219, p.17-20, jan./fev. 1982.
- VEISSEYRE, R. **Lactologia técnica**. Zaragoza: Acribia, 1988. 629p.