CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES

CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL

# VERIFICAÇÃO QUANTITATIVA DOS MÉTODOS QUALITATIVOS OFICIAIS PARA DETECÇÃO DE FRAUDE EM LEITE

Tamares Scherer

Lajeado, dezembro 2015.

Tamares Scherer

# VERIFICAÇÃO QUANTATIVA DOS MÉTODOS QUALITATIVOS OFICIAS PARA DETECÇÃO DE FRAUDE EM LEITE

Monografia apresentada na disciplina de Trabalho de Conclusão, do curso de Química Industrial, do Centro Universitário UNIVATES, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Orientadora: Profª Lucélia Hoehne

Lajeado, dezembro de 2015.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me iluminado e possibilitado alcançar mais um objetivo. Aos meus pais e ao meu noivo, pela paciência e compreensão. E em especial agradeço à orientadora Dra. Lucélia Hoehne, por toda a paciência e atenção, sempre buscando me orientar e auxiliar da melhor forma possível.

# RESUMO

O leite é principal alimento no período inicial da vida de todos os mamíferos. Mesmo após o período de aleitamento, o leite continua fazendo parte da alimentação diária do ser humano. Por isso, a qualidade do leite assim como o dos outros alimentos, é essencial para um consumo seguro e saudável. Dessa forma, a segurança alimentar é um importante quesito que deve ser prioridade, tanto para a indústria bem como para os órgãos fiscalizadores. Considerando a relevância do leite na alimentação humana, é de suma importância a reavaliação das metodologias empregadas para a detecção de fraudes de modo a aperfeiçoar essas técnicas deixando-as mais seguras e confiáveis; pois mesmo com os avanços tecnológicos, observa-se que ainda há a ocorrência de fraudes em leites, tanto a nível brasileiro como mundial; Salvo que essas tecnologias requerem além de um grande investimento, também exigem certo tempo para realização das análises, o que numa indústria de laticínios se torna inviável. Dessa forma, esse trabalho consistiu em determinar quantitativamente as concentrações mínimas das substâncias utilizadas para fraudar leite, a fim de verificar se parte das técnicas qualitativas oficiais brasileiras são ou não seguras; e juntamente realizaram-se alguns testes com outros indicadores de cor, para visualizar se há ou não alguma melhora nas técnicas oficias utilizadas.



**Palavras chaves:** leite, fraudes, testes.

# LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$(AgNO_3)_{aq}$ - Solução de nitrato de prata

$(C_6H_{10}O_5)n_{aq}$ - Solução de amido

° C - Graus Celsius

$C_7H_8O_2$ - Solução hidroalcoólica de guaiacol

$Cl^-$ - Cloreto

$ClO^-$ - Hipoclorito

CMP - Caseinomacropeptídeo

g/cm³ - Gramas por centímetro cúbico

g/L - Gramas por litro

g /mol - Gramas por mol

g - Gramas

º GL - Graus Gay Lussac

º H - Graus Hortvet

HCl - Ácido clorídrico

$HCO_3^-$ - Bicarbonato

HPLC - High Performance Liquide Chromatography

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IN 68 - Instrução Normativa 68

$(K_2CrO_4)_{aq}$ - Solução de cromato de potássio

$(KI)_{aq}$ - Solução de iodeto de potássio

L - Litro

m/v - Massa/volume

m - Massa

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

µl - Micro litros

mL - Mililitro

mm - Milímetros

N - Normal

NaCl - Cloreto de sódio

NaClO - Hipoclorito de sódio

$NaHCO_3$ - Bicarbonato de sódio

N º - Número

PA - Puro

pH - Potencial hidrogeniônico

% - Porcentagem

RIISPOA - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

UHT - Ultra high temperature

(1:2) - 1 parte de um regente para 2 partes de água

V - Volume

ρ - Densidade

# LISTA DE TABELAS

**Tabela 1- Análises e padrões de qualidade de recebimento de leite cru. ..... 19**

**Tabela 2- Quantidade de cada substância a ser adicionada para a realização dos testes..... 32**

**Tabela 3- Resultados da detecção de cada substância em 500mL de leite..... 34**

**Tabela 4- Testes de sacarose realizados com diferentes massas de resorcina PA e volumes de ácido clorídrico..... 43**

**Tabela 5- Testes de sacarose realizados com diferentes massas de hidroquinona e volumes de ácido clorídrico. ..... 45**

**Tabela 6- Testes realizados com o indicador fluoresceína. ..... 46**

**Tabela 7- Cronograma de execução do trabalho de conclusão. ..... 51**

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1- Testes de substituição de indicadores de cor ..... 33**

**Figura 2- Verificação da metodologia de detecção de cloretos em leite ..... 35**

**Figura 3- Verificação da metodologia de detecção de sacarose em leite ..... 37**

**Figura 4- Verificação da metodologia de detecção de amido em leite ..... 38**

**Figura 5- Verificação da metodologia de detecção de peróxido em leite ..... 39**

**Figura 6- Verificação da metodologia de detecção de hipoclorito em leite ..... 41**

**Figura 7- Verificação da metodologia de detecção de bicarbonato em leite .... 42**

**Figura 8- Testes com diferentes quantidades de resorcina PA e volumes de ácido clorídrico ..... 44**

**Figura 9-Fórmula estrutural da Resorcina ..... 44**

**Figura 10- Fórmula estrutural da hidroquinona ..... 44**

**Figura 11- Teste com diferentes quantidades de hidroquinona PA volumes de ácido clorídrico PA ..... 45**

**Figura 12- Resultados dos testes com o indicador fluoresceína ..... 46**

**Figura 13- Resultados dos testes com o indicador metilorange 0,2% ..... 47**

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO ..... 11

2. OBJETIVOS ..... 13

2.1 Objetivo geral ..... 13

2.2 Objetivos específicos ..... 13

3. JUSTIFICATIVA ..... 14

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA ..... 16

4.1 O leite bovino ..... 16

4.2 Produção de leite no Brasil e Rio Grande do Sul ..... 18

4.3 Recebimento do leite na indústria ..... 18

4.4 Análises no recebimento ..... 18

4.5 Fraudes ..... 19

4.6 Fraudes mais comuns ..... 21

4.6.1 Água ..... 21

4.6.2 Reconstituintes da crioscopia e densidade ..... 22

4.6.3 Neutralizantes de acidez ..... 22

4.6.4 Conservadores ..... 22

4.6.5 Antibióticos ..... 23

4.6.6 Misturas previamente formuladas ..... 23

**4.6.7 Soro de queijo** ..... **23**

**5. METODOLOGIAS** ..... **25**

**5.1 Cloretos** ..... **25**

**5.2 Sacarose** ..... **26**

**5.3 Amido** ..... **27**

**5.4 Peróxido de Hidrogênio - Método B - Guaiacol** ..... **28**

**5.5 Cloro e Hipoclorito** ..... **29**

**5.6 Neutralizantes de acidez - Método B - Fenolftaleína** ..... **30**

**6. RESULTADOS E DISCUSSÃO** ..... **34**

**7. CONCLUSÃO** ..... **49**

**8. CRONOGRAMA** ..... **51**

**9. REFERÊNCIAS** ..... **52**

# 1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento rico em nutrientes, que possui constituintes como lipídios, proteínas e carboidratos que variam conforme a espécie e raça do animal. O leite também contém em sua composição a água, sendo ela o constituinte mais abundante; além dessa o leite ainda contém pequenas quantidades de minerais e outros componentes solúveis que são provenientes diretamente do plasma sanguíneo (PELLEGRINI et al., 2012) .

Como todo produto perecível, o leite precisa de uma atenção especial durante toda a sua cadeia produtiva, ou seja, começando desde a sua produção na propriedade rural incluindo o transporte, beneficiamento, comercialização até o consumo, pois poderá estar sujeito a alterações; muitas vezes proveniente de alguma adulteração de forma intencional (FURTADO, 2010).

Dessa forma, o fator que mais interfere na qualidade desse alimento é a adição de alguma substância estranha ou fraudulenta. (WANDERLEY et. al, 2012)

O que se observa, é que cada vez mais a sociedade vem sendo prejudicada com a ocorrência dessas fraudes. E por isso que o leite consumido tanto no Brasil como em qualquer lugar do mundo vem sendo uma constante preocupação de técnicos e autoridades ligadas à área de saúde e laticínios (DRACZ, 1996).

É importante salientar que há uma junção de fatores que levam a constante ocorrência dessas fraudes, ou seja, que vão desde a escassez de métodos ou técnicas mais rápidas e sensíveis até a demora por alguma ação ou atitude dos órgãos fiscalizadores; e são por esses e outros motivos que cada vez mais ocorrem as acentuadas ação dos fraudadores (FURTADO, 2010).

Dessa forma, uma das maneiras de se garantir a qualidade do leite é realizar uma avaliação das metodologias/técnicas empregadas para detecção de fraudes, tampouco o aperfeiçoamento dessas, com o objetivo de poder-se realizar um controle mais seguro e rigoroso desse alimento a fim de se garantir a qualidade do produto final evitando perdas econômicas e principalmente assegurar a saúde pública (WANDERLEY et al.,2012).

# 2. OBJETIVOS

## 2.1 Objetivo Geral

Determinar quantitativamente as concentrações mínimas de substâncias utilizadas para fraudar leite.

## 2.2 Objetivos Específicos

- Determinar as concentrações mínimas das substâncias, (consideradas fraudulentas) que são adicionadas, como: amido, cloretos, sacarose, hipoclorito, peróxido, bicarbonato;
- Verificar a sensibilidade dos métodos analíticos propostos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento;
- Testar outros reagentes / indicadores de cor a fim de verificar se há ou não alguma melhoria nas técnicas.

# 3. JUSTIFICATIVA

O leite é o um alimento essencial e muito importante para os mamíferos, principalmente nos primeiros períodos de suas vidas. As substâncias e nutrientes contidas nesse alimento são fonte de energia (devido à presença de lipídios e lactose) tanto para o desenvolvimento como para o crescimento desses (PRATA et al., 2012). O leite além de conter proteínas e vitaminas, possui no mínimo vinte substâncias solúveis em água e quatro vitaminas lipossolúveis (LEMAY et al., 2009).

Segundo Almeida et al., 2007, a utilização do leite para consumo já ocorria há milhares de anos atrás, antes mesmo de Cristo. Contudo, foi somente no século dezenove através de Louis Pasteur, que as técnicas de conservação como a pasteurização, foram implantadas.

A pasteurização passou e ser utilizada no Brasil em meados da década de quarenta; foi quando o setor de laticínios começou a ganhar ênfase. Com o crescimento desse setor no país, veio também a necessidade de modernização e padronização na produção de leite para uma melhor qualidade desse, evitando assim além de prejuízos, também as fraudes (ALMEIDA et. al., 2007).

A legislação brasileira considera fraude a incorporação de substâncias estranhas/diferentes à composição normal do leite, que podem ocorrer desde a sua produção na propriedade rural até a etapa de comercialização (BRASIL, 2002).

São inúmeras as substâncias que são utilizadas para fraudar o leite, porém nesse trabalho somente serão testadas algumas delas que são consideradas as mais comuns. Para evitar as irregularidades no leite, é necessária uma constante avaliação da qualidade desse produto, a fim de garantir e assegurar a saúde pública

e a evitar também a perdas econômicas. Logo, a avaliação das metodologias empregadas para detecção de fraudes tampouco o aperfeiçoamento dessas técnicas, também deveriam ser necessárias para um controle mais seguro e rigoroso desse alimento (WANDERLEY et al.,2012).

# 4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

## 4.1 *O leite bovino*

Conforme o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), artigo 475, o leite é sem outra especificação, um produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de fêmeas sadias, bem alimentadas e descansadas (TRONCO, 2008).

Sob o ponto de vista físico-químico, o leite é ao mesmo tempo uma solução verdadeira e coloidal; logo, também é uma emulsão e uma suspensão. É considerada uma solução verdadeira por conter dissolvidos: os sais minerais, lactose, uréia, ácido láctico, creatinina, aminoácidos e vitaminas hidrossolúveis; já o fato de ser considerada uma solução coloidal deve-se a sua alta concentração de proteínas (caseína, albumina, globulina e enzimas); uma emulsão pela presença de lipídeos e uma suspensão por apresentar certa quantidade de células epiteliais e leucócitos (BACILA, 2003).

Uma composição média para o leite bovino é: 87% de água; 3,7% de gordura; 4,9 % de lactose; 3,5 % de proteínas e 0,7 % de minerais (PRATA, 2001).

A qualidade/quantidade desses componentes depende diretamente de alguns fatores como: raça, idade, números de gestações, clima, tempo de lactação e da alimentação do animal (RODRIGUES, 2011).

A qualidade do leite, tanto microbiológica como físico-química, que chega à indústria de beneficiamento é consequência da matéria-prima que sai da

propriedade rural. Dessa forma, as indústrias não podem melhorar a qualidade do leite *in natura* que recebem (FIRMINO et al., 2010)

A estocagem do leite *in natura* na propriedade rural deve ser abaixo de 7 ºC por no máximo 48 horas. Esse e outros cuidados são muito importantes, pois o leite quando não é mantido sob refrigeração adequada se torna um meio propício para desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos, capazes de produzir proteases e lípases termorresistentes (SANTOS, 2010).

O seu transporte até a indústria deve ser feito em carros-tanque isotérmicos e no momento do seu recebimento (na indústria), o leite deve apresentar temperatura igual ou inferior a 10 °C (BRASIL, 2002).

Por essa razão, a adoção conjunta de treinamentos, conscientização e capacitação dos produtores, orientando-os quanto ao manejo, ordenha, influência da qualidade da água, entre outros, são essenciais para alcançar a produção de um leite de qualidade (MENDONÇA, 2001).

As condições físico-químicas e microbiológicas do leite envolvem diversos parâmetros que devem ser verificados em laboratório para a determinação de sua qualidade, além da detecção de possíveis fraudes. Assim, a obtenção/produção de leite e seus derivados com qualidade e segurança, dependem cada vez mais de um processo de produção controlado em todas as etapas (LIMA et al., 2006).

O leite também pode conter resíduos de antibióticos; que são receitados aos animais para, por exemplo, tratar uma mastite e/ou outras infecções nas vacas leiteiras. No entanto, tanto produtores como indústria devem estar atentos, pois a ação dos antibióticos não é afetada pela pasteurização, tampouco por qualquer processo térmico. Portanto, é importante que uma série de cuidados sejam tomados quando se aplicam antibióticos às vacas em lactação para que o leite com esse tipo de substância não seja comercializado (BRITO, 1999).

### 4.2 *Produção de leite no Brasil e Rio Grande do Sul*

O Brasil ocupa a quinta posição como maior produtor de leite do mundo; com uma produção de 30,7 bilhões de litros por ano, vem se destacando no cenário mundial (SIQUEIRA et al., 2012).

A produção de leite também vem sendo cada vez mais representativa no Rio Grande do Sul; O estado ocupa o segundo lugar no ranking nacional em volume. Dentro do plano de estratégia da Secretaria da Agricultura estabelecida com a cadeia produtiva, que seria de duplicar a produção de leite em dez anos, o Rio Grande do Sul cresceu 10,3% entre 2012 e 2013. No período, saiu de 11 milhões para 12,3 milhões de litros/dia. Os dados são do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (CÓSSIO, 2014).

### 4.3 *Recebimento do leite na indústria*

O leite é transportado para a usina de beneficiamento em caminhões-tanque. Ao chegar á plataforma de recepção na indústria, é necessário que o caminhão-tanque esteja limpo e com os tanques e local de descarga lacrados. Após a abertura desses tanques, o leite deve ser ligeiramente examinado pelos encarregados da coleta quanto as suas características organolépticas (cor, o aspecto e odor). Em seguida são retiradas amostras de leite de cada compartimento do tanque dos caminhões para realização de uma série de análises laboratoriais a fim de verificar-se qualidade e estado de preservação desse (BRASIL,2002).

### 4.4 *Análises no recebimento*

Segundo a Instrução Normativa nº 68/2006 (Métodos Analíticos Físico-Químicos Oficiais para Leite e Produtos Lácteos) o leite *in natura,* para seu recebimento na indústria, precisa passar por uma bateria de análises e estar dentro dos padrões estabelecidos conforme a **Tabela 1**:

**Tabela 1. Análises e padrões de qualidade de recebimento de leite cru**

| Análise | Padrão |
|---|---|
| Aspecto e Cor | Líquido branco, ou ligeiramente amarelado, homogêneo e sem partículas/substâncias estranhas. |
| Odor | Ausência de odores estranhos |
| Temperatura de recebimento | Máximo 10 ºC |
| Teste do alizarol | No mínimo 0,2 % de alizarina em álcool etílico de concentração mínima de 72 ºGL; |
| Acidez titulável | 0,14% a 0,18% em ácido láctico; |
| Densidade | 1, 028 a 1, 034 g/mL |
| Crioscopia | Máximo – 0,530 ºH (equivalente a – 0,512 ºC); |
| Pesquisa de fosfatase alcalina e de peroxidase | Presença, ou seja, positivo. |
| Extrato seco desengordurado | Mínimo de 8,4 g/100g; |
| Matéria Gorda | Teor original, com o mínimo de 3,0 g/100 g; |
| Proteínas | Mínimo 2,90 g/100g |
| Análise de antibiótico | O resultado deve ser negativo |
| Análises de fraudes: pesquisa conservantes, neutralizantes de acidez, reconstituintes da densidade. | Ausência |

Fonte: Adaptada pela autora (Brasil 2006).

### 4.5 *Fraudes*

Como todo produto perecível, o leite precisa de uma atenção especial durante a sua produção, transporte, beneficiamento, comercialização e consumo, pois poderá estar sujeito a algum tipo de alteração, muitas vezes devido a alguma

adulteração de forma intencional. No entanto, é importante salientar que por ser um alimento complexo, pode estar sujeito a diversas modificações e/ou variações de seus componentes de forma natural ao longo do seu *shelf life* (FURTADO 2010).

O leite foi e ainda continua sendo objeto de fraude, tanto a nível brasileiro como mundial; seja pela simples adição de água ou pela incorporação de conservadores, reconstituintes, alcalinos, antibióticos, entre outras. Além de prejudicar o consumidor economicamente, por fornecer um produto de má qualidade, as consequências geram também a perda da qualidade do alimento, o que o torna impróprio para o consumo, estando automaticamente fora dos padrões; além de propiciar riscos à saúde, por conter substâncias prejudiciais incorporadas.

Um dos mais graves exemplos ocorreu em 2008, na China quando adicionaram intencionalmente melamina ao leite para simular aumento do seu teor de proteína. A substância teve um efeito particular sobre os rins das vítimas; foram registradas seis mortes e mais de 300 mil pessoas adoeceram devido a esse fato (SHARMA, 2010).

O limite de detecção dessas fraudes cada vez mais elaboradas tem sido um desafio constante para os estudiosos.Dessa forma, a falta de profissionais qualificados, a escassez de métodos ou técnicas mais rápidas e sensíveis, demora por alguma ação ou atitude dos órgãos fiscalizadores (especialmente no que se refere a atualização e implementação de novos métodos analíticos), burocracia ao corporativismo das instituições, entre outros são os fatores que literalmente “abrem as portas” para a ação cada vez mais acentuada dos fraudadores (FURTADO, 2010).

No entanto, é importante salientar que novas metodologias são desenvolvidas, mas geralmente a partir da necessidade, ou seja, em resposta a um novo tipo de fraude que esteja sendo realizado. Metodologias modernas, tais como a cromatografia líquida de alta eficiência para a detecção de maltodextrina (BRASIL, 2007) e a eletroforese capilar para a determinação quantitativa de soro de queijo (BRASIL, 2010), são métodos excelentes para garantir e também verificar a qualidade do leite. Há também outras tecnologias que estão sendo utilizadas em relação ao estudo da composição e das características físico químicas do leite, com destaque para as técnicas que empregam o infravermelho (TSENKOVA et al., 1999;

TSENKOVA et al., 2000) e o ultrassom (PONSANO, 2007; PINTO, 2008). Porém o uso dessas tecnologias requer investimento e maior tempo para realização das análises/obtenção de resultados, o que para uma rotina de indústria não são viáveis; são necessárias técnicas rápidas, baratas e confiáveis.

As principais intenções dos fraudadores são: o aumentar o volume do leite, prolongar o *shelf life* do produto (adicionando substâncias que irão auxiliar na diminuição da microbiota presente e/ou inibir o seu crescimento), encobrir algum defeito ou má qualidade do leite cru ou ainda depois de beneficiado. A adição destas substâncias quase sempre é feita de forma estratégica, de forma a dificultar sua detecção, com intuito de tentar reconstituir o leite de maneira artificial (FURTADO 2010).

Cabe salientar que não há na literatura trabalhos que desenvolveram a avaliação quantitativa de análises qualitativas de leite. Existem trabalhos envolvendo estudos pertinentes à análise de fraudes, em que o leite analisado foi previamente fraudado, e após foram realizados ensaios de crioscopia, densidade, acidez, gordura, entre outros. Também encontraram-se estudos em que somente foram analisadas amostras de leite com intuito de verificação das fraudes, ou seja, da verificação da qualidade desse. Dessa forma, se torna interessante avaliar o quão eficazes são as análises de detecção de fraude aplicadas na indústria de laticínios.

## 4.6 *Fraudes mais comuns*

### 4.6.1 *Água*

É o tipo de fraude mais simples e comum que se tem conhecimento. É facilmente detectado pelo controle físico-químico nas análises de rotina, mais precisamente por meio de análise do índice crioscópico (FURTADO, 2010).

### 4.6.2 *Reconstituintes da crioscopia e densidade*

A adição dos reconstituintes ao leite tem como por objetivo recompor a aparência e algumas características físico-químicas do leite que foi fraudado, geralmente com água ou soro de queijo. Dentre os principais reconstituintes utilizados destacam-se o sal, sacarose, amido e álcool.

A adição de sacarose e do amido no leite é uma fraude muito comum; ou seja uma vez adicionada água, o produtor adiciona sacarose e/ou amido na tentativa de recompor a densidade do leite, ou seja, a presença das substâncias sólidas adicionadas aumenta a densidade do leite aguado. A maltodextrina também se inclui nessa categoria (FERRÃO et al., 2007).

### 4.6.3 *Neutralizantes de acidez*

As substâncias neutralizantes como bicarbonatos e soda, são adicionadas com objetivo de reverter a acidez desenvolvida por microrganismos mesófilos, que degradam a lactose gerando ácido lático, levando a coagulação do leite. A neutralização de maneira ilegal da acidez pode mascarar a acidez desenvolvida, tornando um leite de péssima qualidade em um leite aceitável conforme a legislação brasileira (SILVA et al., 2010).

### 4.6.4 *Conservadores*

Quanto aos conservadores (ou conservantes), como o próprio nome já indica, são empregados de maneira a prolongar a vida útil do leite, por meio da diminuição da microbiota presente no leite, inibindo o crescimento desse. As substâncias mais utilizadas para esse fim são o peróxido de hidrogênio, formol, cloro e também os antibióticos ou outras substâncias antimicrobianos (FURTADO, 2010).

### 4.6.5 *Antibióticos*

A presença/adição de antibióticos acontece quase que sempre de maneira “não intencional”, ou seja, ocorre quando o leite de animais medicados com antibióticos não é devidamente separado. A detecção desses pode ser feita através do uso de “kits” específicos utilizados para esse fim. Porém, a existência de inúmeras variedades de drogas dificulta de certa forma, a detecção de mais de dois grupos de uma só vez (FURTADO, 2010).

A legislação brasileira não estabelece quais grupos de antibióticos devem ser pesquisados no leite cru (BRASIL, 2011), dessa forma a indústria muitas vezes pesquisa apenas um tipo de droga, o que pode levar a essa receber um leite que pode estar contaminado.

### 4.6.6 *Misturas previamente formuladas*

As misturas que são previamente formuladas envolvem geralmente água e soro de queijo que juntos com outros ingredientes atuam de forma a “ajustar” o ponto de congelamento, densidade e acidez do leite, por exemplo.

A detecção desse tipo de fraude torna-se muitas vezes difícil, uma vez que o leite é normalmente testado pelos fraudadores antes dele ser levado à indústria ou vendido para o comércio (FURTADO, 2010).

### 4.6.7 *Soro de queijo*

A adição do soro de queijo tem como objetivo aumentar o volume de leite. Por possuir uma composição de água, lactose e sais minerais, apresenta também características físico-químicas, como densidade e índice crioscópico, muito semelhantes com as do leite (TRONCO, 2008).

As metodologias oficiais brasileiras para detecção de soro, determinação do ácido siálico livre e índice de caseinomacropeptídeo (CMP), são bastante discutidas

por se basearem na detecção de uma fração protéica que pode também estar presente no leite, mesmo que não tenha sido fraudado com soro de queijo. Dessa forma o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou uma instrução normativa 69 em que aprova como método oficial de determinação de CMP em leite, por HPLC seguido de eletroforese capilar e espectrometria de massas, aplicadas a leite UHT e pasteurizado (FURTADO, 2010).

O CMP é um peptídeo específico do soro de leite que é obtido pela coagulação enzimática da caseína na fabricação de queijos. Por ser específico do soro, o CMP pode ser considerado um indicativo da adulteração do leite com esse ingrediente, quando em excesso. O método que faz uso do equipamento HPLC e de outros equipamentos, consiste inicialmente na precipitação seletiva das proteínas do leite com ácido tricloroacético, até que se obtenham pequenos peptídeos como o CMP, que remanescem no extrato ácido, podendo então ser determinados por cromatografia de exclusão por tamanho, com detecção de absorção no UV, utilizando detector de arranjo de fotodiodos (MAPA, 2014).

Considerando a importância dessas análises realizadas, e da mesma forma as metodologias que são empregadas para a detecção dessas fraudes, o principal foco destas determinações e/ou verificações são a garantia da isenção de qualquer substância considerada fraudulenta, pois além de serem, algumas delas, um risco a saúde pública, também não é leal lesar o consumidor economicamente. Desse modo, as substâncias pesquisadas são as mais comuns de serem utilizadas para fraudar leite, pois não requerem grandes “investimentos econômicos”, além de estarem ao alcance de qualquer civil. Por isso, com a crescente necessidade de cada vez mais ter-se confiabilidade de produzir-se alimentos seguros tanto as indústrias quanto MAPA precisam procurar atentar-se cada vez mais quanto as metodologias aplicadas e a necessidade de profissionais capacitados para a detecção de fraudes.

# 5. METODOLOGIAS

Utilizou-se para os testes leite integral UHT de uma marca disponível no comércio do Vale do Taquari; e para simular as fraudes: açúcar comercial da marca Santa Isabel (teste de sacarose), cloreto de sódio PA da marca Synth (teste de cloretos), peróxido de hidrogênio 3% da marca Farmax, amido solúvel PA da marca Synth, hipoclorito de sódio comercial da marca Clean Vale (teste de hipoclorito), bicarbonato de sódio PA da marca Synth (teste de alcalinos).

As metodologias são conforme NORMATIVA IN 68 de 2006 e portaria 01 de 07 de outubro de 1981 do MAPA.

## 5.1 CLORETOS

**Princípio**

Esta análise baseia-se na reação do nitrato de prata com os cloretos do leite, utilizando o cromato de potássio como indicador.

**Material e reagentes utilizados:**

Pipetas graduadas de 5 e 10 mL;

Tubo de ensaio;

Solução de cromato de potássio $(K_2CrO_4)_{aq}$ a 5 % (m/v);

Solução de nitrato de prata $(AgNO_3)_{aq}$ 0,1 N.

**Procedimento**

Em tubo de ensaio colocou-se 10 mL de leite, adicionou-se 0,5 mL de solução de cromato de potássio a 5 % e 4,5 mL de solução de nitrato de prata 0,1 N e agitou-se, e após observou-se a coloração produzida.

**Resultado**

Positivo: coloração amarela intensa, quase fosforescente, indicando a presença em excesso de sais no leite.

Negativo: coloração amarela, indicando que a quantidade de sais no leite se encontra dentro da normalidade.

## 5.2 SACAROSE

**Princípio:**

A resorcina, em meio ácido, condensa-se com as aldoses, formando um composto de coloração amarelo alaranjado quando resultando positivo, ou seja, quando o leite estiver com presença de sacarose.

**Material, equipamentos e reagentes:**

Banho Maria

Balança Analítica;

Pipeta graduada de 10 mL;

Tubo de ensaio;

Pêra de Sucção;

Ácido Clorídrico PA

Resorcina PA;

**Procedimento:**

Transferiu-se 10 mL de leite para um tubo de ensaio. Adicionou-se 1 mL de ácido clorídrico PA e 0,1 g de resorcina. Agitou-se e aqueceu - se em banho-maria fervente por 5 minutos. Na presença de sacarose observou-se uma coloração amarelo-alaranjada imediata. Não levou-se em consideração se a coloração que apareceu depois de certo tempo, pois foi devido à hidrólise da lactose.

**Resultado:**

Negativo: sem alteração de cor, indicando a ausência de adição de sacarose.

Positiva: coloração amarelo-alaranjada sendo esse o princípio da reação ocorrida, indicando a adição de sacarose ao leite.

## 5.3 AMIDO

**Princípio**

A análise de detecção desse consiste na reação do amido com o iodo, formando um composto de adsorção de coloração azul (formação de uma auréola azul na parte superior).

**Materiais, equipamento e reagentes utilizados:**

Banho- Maria;

Pipeta graduada de 10 mL;

Tubo de ensaio de 25 mL;

Pipeta conta gotas.

Pêra de Sucção;

Solução de Lugol.

**Procedimento**

Transferiu-se 10 mL de leite fluído para um tubo de ensaio, aqueceu-se até ebulição em banho-maria e deixou-se por 5 minutos. Esfriou-se em água corrente, após adicionou-se a amostra resfriada 2 gotas de solução de lugol e observou-se a coloração produzida.

**Resultado**

Positivo: coloração azul, ou seja, a coloração da reação do amido com iodo, indicando a presença desse no leite.

Negativo: sem alteração de cor, indicando a ausência da adição de amido ao leite.

## 5.4 PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO - Método B: Guaiacol

**Princípio**

A peroxidase do leite age sobre o peróxido de hidrogênio, liberando oxigênio transformando o guaiacol da forma leuco para sua forma de coloração rosada.

**Material, equipamentos e reagentes:**

Banho-Maria;

Pipetas graduadas de 5 e 10 mL;

Tubo de ensaio;

Pêra de Sucção;

Solução hidroalcoólica de guaiacol $(C_7H_8O_2)_{aq}$ a 1 %

**Procedimento**

Transferiu-se 10 mL da amostra para tubo de ensaio e aqueceu-se em banho-maria até 35ºC, adicionou-se 2 mL da solução hidroalcoólica de guaiacol a 1 % e 2 mL de leite cru, agitou-se.

**Resultado**

Positivo: desenvolvimento de coloração salmão, indicando a presença do peróxido de hidrogênio.

Negativo: sem alteração de cor, indicando a ausência da adição de peróxido de hidrogênio.

## 5.5 HIPOCLORITO

**Princípio**

Baseia-se na formação do iodo livre a partir do iodeto de potássio, pela ação do cloro livre ou hipoclorito.

**Material, equipamentos e reagentes utilizados:**

Banho-Maria;

Pipetas graduadas de 1 mL e 5 mL;

Tubo de ensaio de 20 x 200 mm;

Pêra de Sucção;

Solução de ácido clorídrico 1:2 $(HCl)_{aq}$;

Solução de amido $(C_6H_{10}O_5)n_{aq}$ a 1 % (m/v);

Solução de iodeto de potássio a 7,5 % (m/v).

**Procedimento**

Em tubo de ensaio, colocou-se 5 mL de leite e adicionou-se 0,5 mL de solução de iodeto de potássio a 7,5 %, agitou-se. Adicionou-se ao tubo 4 mL de solução de ácido clorídrico (1:2) e colocou-se em banho-maria a 80 °C por 10 minutos. Esfriou-se em água corrente. O aparecimento de coloração amarela indicou a presença de hipocloritos (confirmou-se a presença com a adição de gotas de solução de amido a 1%, que desenvolveu coloração azul/violeta).

**Resultado**

Positivo para hipoclorito: coloração amarela seguido da coloração azul/violeta devido à adição de amido 1%.

Negativo: sem alteração de cor, indicando a ausência da adição de hipoclorito no leite.

**5.6 NEUTRALIZANTES DA ACIDEZ - Método B: Fenolftaleína**

**Princípio**

A metodologia consiste na neutralização do leite com hidróxido de sódio e logo após na reacidificação com ácido sulfúrico. Dessa forma, a presença de alguma substância alcalina é revelada pela adição da fenolftaleína no fim da análise.

**Material, equipamentos, reagentes:**

Banho de gelo;

Placa aquecedora;

Béquer de 150 mL;

Pipetas volumétricas de 1, 2 e 11 mL;

Conta gotas;

Pêra de Sucção;

Bureta;

Solução alcoólica de fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$) a 1 % (m/v);

Solução de ácido sulfúrico $(H_2SO_4)_{aq}$ 0,025 N;

Solução de hidróxido de sódio $(NaOH)_{aq}$ 0,1N.

**Procedimento**

Transferiu-se 11 mL da amostra para béquer de 150 mL, adicionou-se 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração rósea persistente. Reacidificou-se com 1 mL de solução de ácido sulfúrico 0,025 N, aqueceu-se até ebulição, esfriou-se rapidamente em banho de gelo e adicionou-se 2 mL de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 %.

**Resultado**

Positivo: coloração rósea, neutralização com carbonato de sódio ($Na_2CO_3$) ou com bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$).

Negativo: sem alteração de cor, inçando a ausência de bicarbonatos ao leite.

As quantidades de cada substância adicionada para fraudar o leite de forma intencional a fim de verificar-se a sensibilidade de cada método estão dispostas na **Tabela 2** a seguir**.**

**Tabela 2. Quantidade de cada substância a ser adicionada para realização dos testes**

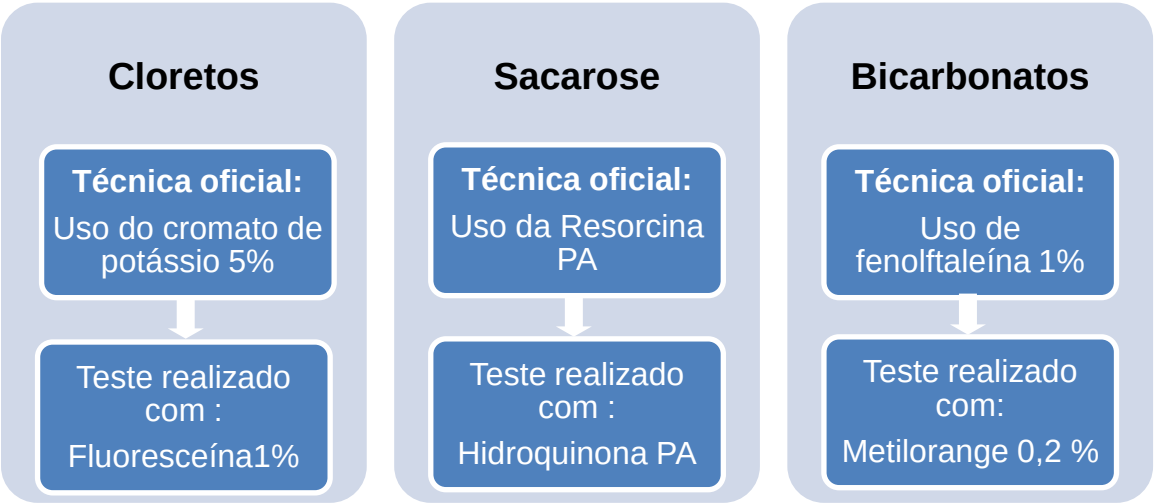
| Quantidade de leite | Massa da substância fraudulenta a ser adicionada | Substância adicionada |
|---|---|---|
| 500 mL | 0, 0010 g<br>0, 0050g<br>0, 0100g<br>0, 1000g<br>0, 2000g | Sacarose |
| 500 mL | 0, 0010 g<br>0, 0050g<br>0, 0100g<br>0, 1000g<br>0, 2000g | Amido |
| 500 mL | 0, 0010 g<br>0, 0050g<br>0, 0100g<br>0, 1000g<br>0, 2000g | Cloreto de sódio |
| 500 mL | 0, 0010 g<br>0, 0050g<br>0, 0100g<br>0, 1000g<br>0, 2000g | Bicarbonato de sódio |
| 500 mL | 10 micro litros<br>50 micro litros<br>100 micro litros<br>1000 micro litros<br>2000 micro litros | Peróxido de Hidrogênio |
| 500 mL | 10 micro litros<br>50 micro litros<br>100 micro litros<br>1000 micro litros<br>2000 micro litros | Hipoclorito |

Fonte: Autora.

Obs.: Estes valores de “massa da substância fraudulenta a ser adicionada” foram estipulados para os primeiros testes, porém estes foram modificados/ ajustados conforme a necessidade.

Após a verificação quantitativa, de parte dos métodos qualitativos oficias de detecção de fraude em leite, realizaram-se novos testes, porém esses com intuito de promover alguma melhoria nas técnicas atuais. Estes testes consistiram na substituição de alguns indicadores de cor nas técnicas de detecção de cloretos, bicarbonato e sacarose conforme a **Figura 1** a seguir:

**Figura 1 – Testes de substituição de indicadores de cor**



# 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes iniciais para a verificação de alguns dos métodos oficiais, aplicados para a determinação de substâncias consideradas fraudulentas (amido, peróxido, hipoclorito, sacarose, cloretos, bicarbonato) foram realizados conforme a **Tabela 2**; porém, para uma melhor detecção da presença da cada uma das substâncias, realizaram-se alguns pequenos ajustes nas pesagens dessas. Assim, os resultados para cada método se deram conforme a **Tabela 3:**

**Tabela 3 - Resultados da detecção de cada substância em 500 mL de leite:**

| Substâncias fraudulentas | Detecção da presença da substância em 500 mL de leite | % de cada substância cada 100mL de leite |
|---|---|---|
| Cloreto de sódio PA (cloretos) | 0,2000 g | 0,04% |
| Açúcar comercial (sacarose) | 0,1000 g | 0,02% |
| Amido solúvel PA (amido) | 0,0500 g | 0,01% |
| Peróxido de hidrogênio 3% (peróxido) | 2500 µL | 0,6 % |
| Hipoclorito de sódio comercial (hipoclorito) | 6500 µL | 1,44 % |
| Bicarbonato de sódio PA (bicarbonatos) | 0,3000 g | 0,06 % |

Fonte: a autora.

*- Verificação quantitativa de cloretos em leite*

Conforme a metodologia vigente para a detecção de cloretos em leite, verificou-se que visualização da presença de cloretos com a substância NaCl se tornou possível a partir de 0,2000 g em 500ml de leite conforme **Figura 2**, logo, somente de cloretos, segundo os cálculos a seguir realizados, o resultado é 0,02 g de $Cl^-$ em 100mL de leite :

0, 2000g de NaCl - 500 mL de leite

X - 100 mL de leite

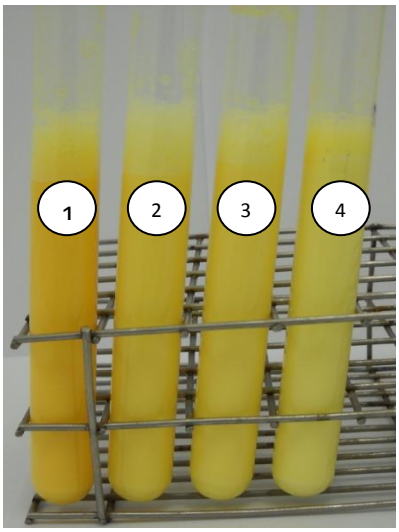
X= 0,04 de NaCl g

58,45 g (NaCl) - 35,45 ($Cl^-$)

0,04 g (NaCl) - X

X= 0,02 g de $Cl^-$ a cada 100 mL de leite.

**Figura 2 – Verificação da metodologia de detecção de cloretos em leite**




Fonte: a autora

Legenda: Tubo 1: 0 g de NaCl em 500 mL de leite;

Tubo 2: 0,1000g de NaCl em 500 mL de leite;

Tubo 3: 0,1500g de NaCl em 500 mL de leite;

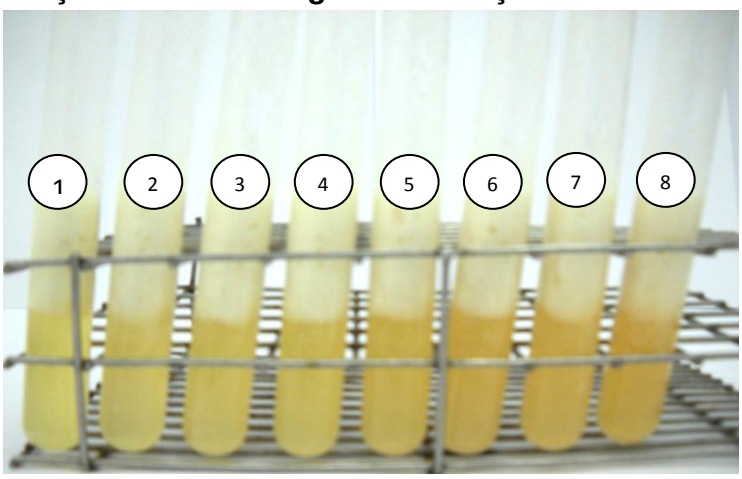
Tubo 4: 0,2000g de NaCl em 500 mL de leite;

Segundo a legislação brasileira (IN 68), o resultado positivo, de coloração amarela, indica a presença de cloretos em quantidades superiores à faixa normal de 0,08 a 0,1 %. De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que a técnica para a detecção de cloretos, possui um ótimo grau de sensibilidade; podendo-se até detectar concentrações mais baixas do que as encontradas naturalmente no leite. Porém é importante salientar que em alguns casos o alto teor de cloretos pode não ser somente influenciado pela adição de algum adulterante; Ou seja, a alteração no teor de cloretos pode também ser influenciada devido algum tipo de doença infecciosa, como a mastite, pois segundo estudos de ZAFALON et.al 2007, os resultados de acidez titulável e teor de cloretos, foram os mais alterados em casos de mastite subclínica, quando comparados a quartos mamários sadios assim os resultados se valeram de 19,0% a 23,0% para acidez titulável e 26,7% a 46,7% para o conteúdo de cloretos.

*- Verificação quantitativa de sacarose em leite*

Para a detecção da sacarose em leite, utilizou-se o açúcar comercial. Verificou-se que o resultado visual da sua presença, é a partir de 0,1000 g em 500 mL de leite conforme **Figura 3.**

**Figura 3 - Verificação da metodologia de detecção de sacarose em leite.**




Fonte: a autora

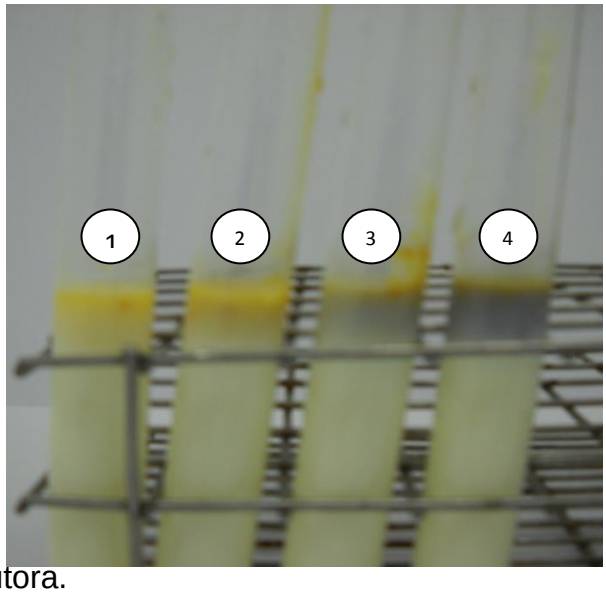
Legenda: Tubo 1: 0 g de açúcar em 500 mL de leite;
Tubo 2: 0,0010 g de açúcar em 500 mL de leite;
Tubo 3: 0,0050 g de açúcar em 500 mL de leite;
Tubo 4: 0,0100 g de açúcar em 500 mL de leite;
Tubo 5: 0,1000 g de açúcar em 500 mL de leite;
Tubo 6: 0,1500 g de açúcar em 500 mL de leite;
Tubo 7: 0,2000 g de açúcar em 500 mL de leite;
Tubo 8: 0,2500 g de açúcar em 500 mL de leite;

Como pode ser observado, essa metodologia ainda necessita ser reavaliada e/ou ajustada, pois a visualização do resultado positivo muitas vezes fica a critério do analista; além de que, até ser atingido o resultado positivo de sacarose (0,1000 g em 500mL), pode-se afirmar que há uma faixa considerável , sendo suscetível a ação de fraudadores.

*- Verificação quantitativa de amido em leite*

Na detecção do amido, segundo os testes realizados, a visualização da sua presença foi possível a partir de 0,0500g em 500mL conforme **Figura 4**.

**Figura 4 - Verificação da metodologia de detecção de amido em leite.**




Fonte: a autora.

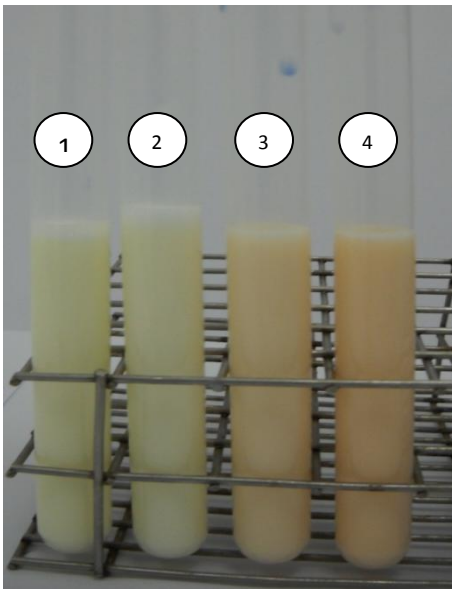
Legenda: Tubo 1: 0 g de amido em 500 mL de leite;
Tubo 2: 0,0100 g de amido em 500 mL de leite;
Tubo 3: 0,0500 g de amido em 500 mL de leite;
Tubo 4: 0,1000 g de amido em 500 mL de leite;

Pode-se observar que a metodologia oficial testada, pode ser considerada sensível para a detecção do amido; porém deve-se considerar que ainda há uma pequena faixa que fica suscetível a adição dessa substância fraudulenta. Pode – se verificar que houve caráter positivo a partir da concentração de 0,0100g a cada 500 mL de leite.

*- Verificação quantitativa de peróxido em leite*

Para o peróxido de hidrogênio 3 %, verificou-se que a sua detecção foi visível a partir de 2500 µL em 500mL de leite conforme **Figura 5**; podendo também ser considerada uma metodologia com boa sensibilidade, uma vez que há diferença significativa na mudança de cor, indicando um resultado positivo expressivo.

**Figura 5 - Verificação da metodologia de detecção de peróxido em leite.**




Fonte : a autora.

Legenda: Tubo 1: 0 µL de peróxido de hidrogênio em 500 mL de leite;

Tubo 2: 2000 µL de peróxido de hidrogênio em 500 mL de leite;

Tubo 3: 2500 µL de peróxido de hidrogênio em 500 mL de leite;

Tubo 4: 3000 µL de peróxido de hidrogênio em 500 mL de leite.

*- Verificação quantitativa de hipoclorito em leite*

Nos testes com o Hipoclorito de sódio comercial, verificou-se que a sua presença foi possível de ser visualizada após a adição de 6500 µl em 500 mL de leite, conforme **Figura 6**, dessa forma, é necessário calcular a concentração de hipoclorito a partir do hipoclorito de sódio através dos cálculos a seguir:

6500 µL de NaClO - 500 mL de leite

X - 100 mL de leite

X=0,0013 litros

$\rho = m / v$

$\rho_{NaClO}$ = 1,07 à 1,14 g/cm³ , média de 1,11 g/cm³ ou 1110 g/L

1110 g/L = m / 0,0013 L

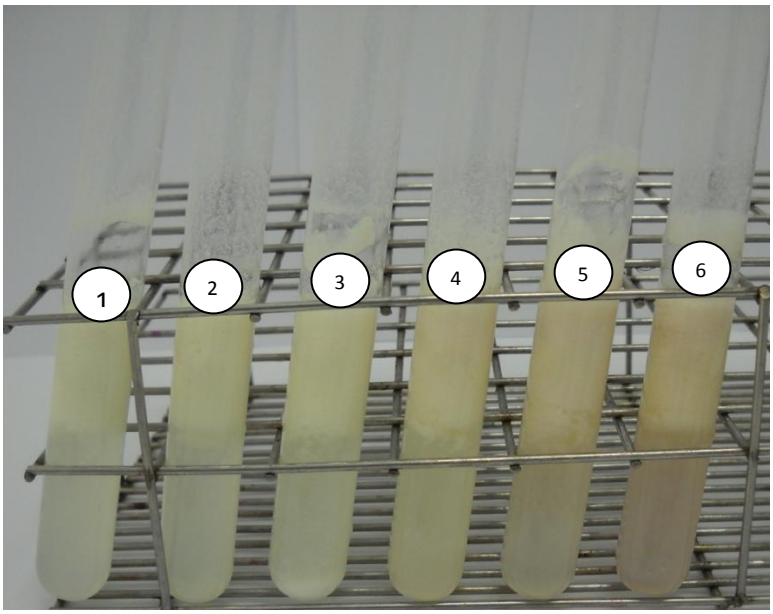
m = 1,443 g de NaClO

NaClO 74,44 g/mol - 51,45 g/mol de ClO

1,443 g - X

X= 0,9973 g de ClO , aproximadamente 1 g a cada 100 mL de leite.

**Figura 6 - Verificação da metodologia de detecção de hipoclorito em leite.**




Fonte: a autora.

Legenda: Tubo 1: 0 µL de hipoclorito de sódio em 500 mL de leite;
Tubo 2: 4000 µL de hipoclorito de sódio em 500 mL de leite;
Tubo 3: 5000 µL de hipoclorito de sódio em 500 mL de leite;
Tubo 4: 5500 µL de hipoclorito de sódio em 500 mL de leite;
Tubo 5: 6000 µL de hipoclorito de sódio em 500 mL de leite;
Tubo 6: 6500 µL de hipoclorito de sódio em 500 mL de leite;

Pode-se afirmar que a metodologia vigente apresenta-se com uma sensibilidade não tão adequada para a detecção da presença de hipoclorito em leite; sendo muito suscetível a equívocos analíticos, em função da dificuldade da percepção do resultado positivo por não estar devidamente claro.

*- Verificação quantitativa de bicarbonato em leite*

Na verificação da metodologia para a detecção de bicarbonatos, obteve-se que a presença do bicarbonato de sódio só foi detectada ao se adicionar 0,3000 g de bicarbonato de sódio em 500 mL de leite conforme **Figura 7**. Para obter-se somente o resultado de bicarbonato, realizaram-se os seguintes cálculos:

0,3000g de $NaHCO_3$ - 500 mL de leite

X - 100 mL de leite

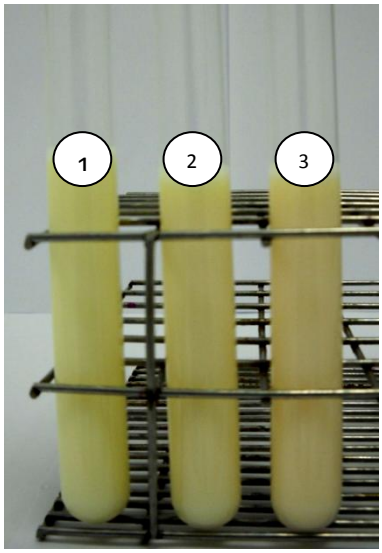
X= 0,06 g

84,007 g ($NaHCO_3$) - 61 g ($HCO_3^-$)

0,06 g ($NaHCO_3$) - X

X= 0,044 g $HCO_3^-$ a cada 100 mL de leite.

**Figura 7 - Verificação da metodologia de detecção de bicarbonatos em leite.**




Fonte: a autora.

Legenda: Tubo 1: 0 g de bicarbonato de sódio em 500 mL de leite;

Tubo 2: 0,2500 g de bicarbonato de sódio em 500 mL de leite;

Tubo 3: 0,3000 g de bicarbonato de sódio em 500 mL de leite;

Assim, pode-se afirmar que ainda há uma faixa vulnerável a ação dos fraudadores; mas em contrapartida a visualização do resultado obtido não deixa dúvidas quanto a presença ou ausência de bicarbonatos em leite.

**Testes com outros indicadores e reagentes**

Com intuito de melhorar as técnicas da legislação vigente, neste trabalho também foram realizadas alguns testes de troca de reagente e/ou indicadores.

*- Testes com a metodologia da sacarose*

Segundo os testes realizados, pôde–se observar que na técnica de análise da sacarose há certa dificuldade em poder observar-se com clareza a presença de sacarose, ou seja, detectar o positivo. Por isso foram realizados alguns testes para verificar se há ou não uma melhora nessa técnica.

Verificaram-se os resultados dos testes com diferentes volumes do reagente (HCl) e também testou-se o indicador dessa técnica, ou seja, a resorcina PA. Os testes com diferentes massas de resorcina PA e volumes de ácido clorídrico, foram realizados conforme a **Tabela 4** e podem ser visualizados na **Figura 8.**

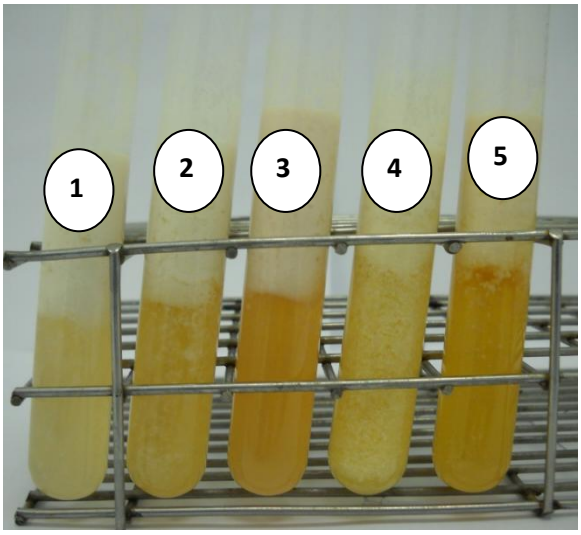
**Tabela 4- Testes de sacarose realizados com diferentes massas de resorcina PA e volumes de ácido clorídrico**

| NºTubo | Testes realizados |
|---|---|
| 1 | 10 ml de leite; 1 mL de HCl ; 0,1 g de resorcina; |
| 2 | 10 ml de leite; 1 mL de HCl ; 0,1 g de resorcina, (teste positivo)* ; |
| 3 | 10 ml de leite; 2 mL de HCl ; 0,1 g de resorcina,(teste positivo)* ; |
| 4 | 10 ml de leite ;1 mL de HCl ; 0,2 g de resorcina,(teste positivo)* ; |
| 5 | 10 ml de leite; 2 mL de HCl ; 0,2 g de resorcina,(teste positivo)*. |

Fonte: a autora.

* o teste positivo deu-se: 0,1000 g de sacarose (açúcar comercial) em 500mL de leite.

**Figura 8 - Testes com diferentes quantidades de resorcina PA e volumes de ácido clorídrico**

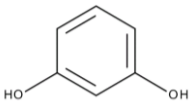



Fonte: a autora.

Conforme a **Figura 8** pode-se observar que o indicador resorcina, demonstra ser muito instável frente as alterações de volume de reagente adicionado e também quanto a sua própria quantidade de massa adicionada; além de o próprio “branco” ( tubo nº 1) causar a impressão de estar com presença de sacarose.Dessa forma pode-se considerar essa metodologia um tanto complicada de se trabalhar, por não passar a devida confiança (quanto a coloração positiva) no resultado final.

E a partir dos resultados não coerentes visualmente, obtidos com a resorcina, é que se realizou uma busca por outro indicador. Assim, realizaram-se testes trocando o indicador resorcina PA **Figura 9**, por seu isômero hidroquinona PA **Figura 10**, para verificar se há ou não alguma melhora na visualização da detecção do positivo. Dessa forma pode se observar a troca do indicador resorcina PA pela hidroquinona PA conforme a **Tabela 5** e visualizados na **Figura 11.**

**Figura 9- Fórmula estrutural da Resorcina**




Fonte: http://zzct.blogspot.com.br/2013_04_01_archive.html;

**Figura 10 - Fórmula estrutural da hidroquinona**

“Química. Derivados e Hidrocarbonetos”

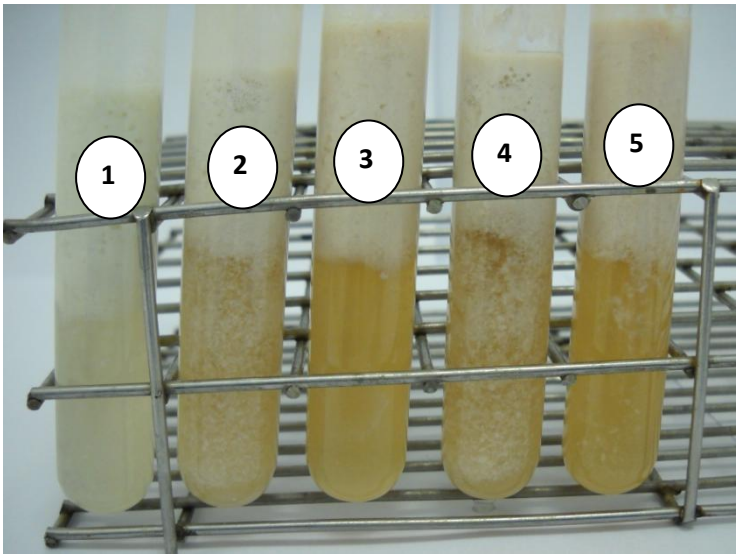
**Tabela 5 - Testes de sacarose realizados com diferentes massas de hidroquinona PA e volumes de ácido clorídrico**

| NºTubo | Testes realizados |
|---|---|
| 1 | 10 ml de leite; 1 mL de HCl ; 0,1 g de hidroquinona; |
| 2 | 10 ml de leite; 1 mLde HCl ; 0,1 g de hidroquinona, (teste positivo)*; |
| 3 | 10 ml de leite; 2 mL de HCl ; 0,1 g de hidroquinona,(teste positivo)*; |
| 4 | 10 ml de leite; 1 mL de HCl ; 0,2 g de hidroquinona,(teste positivo)*; |
| 5 | 10 ml de leite; 2 mL de HCl ; 0,2 g de hidroquinona,(teste positivo)*. |

Fonte: a autora

* o teste positivo deu-se: 0,1000 g de sacarose (açúcar comercial) em 500mL de leite

**Figura 11 - Teste com diferentes quantidades de hidroquinona PA e volumes de ácido clorídrico PA.**




Fonte: a autora.

Dessa forma, a partir dos testes pôde-se observar que utilizando-se o indicador hidroquinona, não houve alterações de cor “entre os positivos” tão consideráveis em relação ao que ocorreu com o indicador resorcina. Pode-se afirmar que a hidroquinona se mostrou um indicador mais estável frente as alterações tanto de volume de reagente quanto a quantidade de massa do mesmo. Por isso pode ser considerado um bom indicador como substituto da resorcina.

*- Testes com a metodologia dos cloretos*

Para a análise de cloretos, realizaram-se ensaios utilizando a fluoresceína 2% ao invés do indicador cromato de potássio 5%. Ou seja, a metodologia seguiu a legislação, porém, somente trocou-se o indicador.

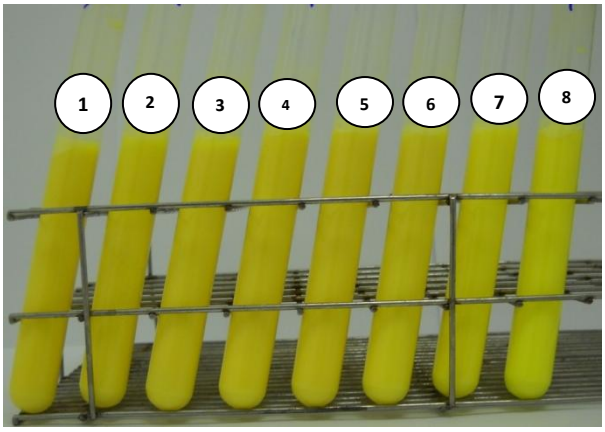
A escolha do indicador de adsorção fluoresceína se deu por esse também ser utilizado nas análises de cloretos (pelo método Fajans), e por ter uma boa atuação em amostras com um intervalo de pH entre 7 e 10, ou seja, próximo ao pH do leite. Os testes foram realizados conforme a **Tabela 6** e os resultados visualizados na **Figura 12.**

**Tabela 6- Testes realizados com o indicador fluoresceína 2%**

| Nº Tubo | Adição de NaCl PA em 500 mL de leite |
|---|---|
| 1 | 0 g (Branco) |
| 2 | 0,0100 g |
| 3 | 0,0500 g |
| 4 | 0,1000g |
| 5 | 0,1500g |
| 6 | 0,2000g |
| 7 | 0,2500g |
| 8 | 0,3000g |

Fonte: a autora.

**Figura 12 - Resultados dos testes com o indicador fluoresceína 2%**




Fonte: a autora.

Verificou-se conforme a **Figura 12,** que a visualização do positivo só pôde ser observada, a partir da adição de 0, 3000 g em 500 mL de leite (tubo nº 8); logo, com o indicador cromato de potássio 5 %, a visualização do positivo já pode observada a partir da adição de 0,2000g de NaCl em 500 mL de leite;

Assim pode-se afirmar que a utilização do indicador cromato de potássio se torna mais viável, uma vez que ele se demonstrou mais sensível frente à detecção da presença de cloretos em leites, nesse caso do NaCl.

*- Testes com a metodologia dos bicarbonatos*

A partir da metodologia oficial também se realizaram testes para trocar o indicador fenolftaleína 1% por metilorange 0,2%. Verificou-se já no início da técnica que o indicador ao ser gotejado em 11 mL de leite, indicou uma tonalidade amarelada, conforme **Figura 13**, porém ao titular-se com hidróxido de sódio 0, 1111N, foi gasto o dobro do volume do titulante em comparação ao volume gasto do com a fenolftaleína. Além do volume maior que foi gasto, não foi possível visualizar o ponto viragem desejado.

**Figura 13 - Resultados dos testes com o indicador metilorange 0,2%**

Fonte: a autora.

Pôde-se observar que com a troca de fenolftaleína 1% pelo metilorange 0,2% não obteve-se o resultado esperado, logo por se tratar de um indicador de coloração intensa, não sendo tão facilmente adaptado a qualquer técnica; uma vez que o leite por já possui coloração, geralmente branca, pode-se considerar esse o fato de não poder-se ter uma melhor visualização do indicador.

# 7. CONCLUSÃO

A partir dos testes realizados pode-se afirmar que dentre as metodologias de detecção de fraudes testadas, há técnicas sensíveis, mas foi observado que essas são suscetíveis a erros analíticos; por isso, essas análises precisam ser realizadas com cautela, pois elas requerem atenção aos detalhes, os quais podem fazer muita diferença; é muito importante a necessidade de profissionais qualificados e treinados para que os equívocos não venham a ocorrer.

Quanto ao quesito sensibilidade, pode-se afirmar a partir dos resultados obtidos, que as substâncias são mais facilmente detectadas quando não ligadas a qualquer outra substância, ou seja, para as metodologias de cloretos, hipoclorito e bicarbonato, ambas as presenças foram detectadas com uma massa inferior, menor do que quando estas estavam ligadas ao sódio; pode-se concluir que o sódio nesse caso, é dado como um interferente. Para o amido e sacarose não há outra substância que possa se ligar a eles causando algum tipo interferência, porém os testes realizados indicam que as metodologias ainda deixam certa tolerância até que o positivo seja detectado. Nos testes com peróxido de hidrogênio a metodologia se apresentou com boa sensibilidade e com ótima visualização do positivo, porém tende-se observar que o resultado positivo permanece por poucos instantes, ou seja, ocorre o desaparecimento da cor positiva, justamente pelo peróxido ser volátil.

Para os testes de substituição dos indicadores de cor, pode–se afirmar que dentre os testados, o que apresentou melhor comportamento foi a hidroquinona, no teste de sacarose, por se manter estável frente às alterações; já a fluoresceína, na detecção de cloretos, não mostrou possuir uma sensibilidade adequada, tampouco o

indicador metilorange na técnica de bicarbonato, uma vez que apresentou uma coloração intensa que não era desejada.

Dessa forma, este trabalho atingiu seus objetivos com êxito, que eram determinar as concentrações mínimas de algumas das substâncias consideradas fraudulentas, ou seja, de amido, cloretos, sacarose, hipoclorito, peróxido, bicarbonato; juntamente realizar a verificação da sensibilidade desses métodos analíticos; e dessa forma também foram propostos e testados outros reagentes/indicadores de cor com a finalidade de proporcionar alguma melhoria nas técnicas.

# 8. CRONOGRAMA

O trabalho foi desenvolvido conforme a **Tabela 7**.

**Tabela 7. Cronograma de execução do trabalho de conclusão**

| Etapas | Jul/15 | Ago/15 | Set/15 | Out/15 | Nov/15 | Dez/15 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Definição do tema | X | | | | | |
| Elaboração do Projeto | X | X | | | | |
| Entrega do projeto | | X | | | | |
| Realização das análises | | X | X | | | |
| Entrega dos resultados parciais | | | X | | | |
| Discussão dos resultados | | | | X | | |
| Entrega da 1ª versão da monografia | | | | | X | |
| Apresentação oral | | | | | | X |
| Entrega da versão final da monografia | | | | | | X |

Fonte: Autora.

# 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de Penteado, M. D. V. C. **Ciências Farmacêuticas. Vigilância Sanitária: Tópicos sobre Legislação e Análise de Alimentos**. Rio de Janeiro. Guanabara e Koogan, 203p, 2007.

BACILA, M.; **Bioquímica Veterinária**, 2ª ed., São Paulo: Robe Editorial; 2003; 583p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos nº. 1255, de 25 de junho de 1962, n. 1236, de 2 de setembro de 1994, n.1812, de 8 de fevereiro de 1996, e n. 2.244, de 4 de junho de 1997. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal – RIISPOA**. Brasília, DF, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 51, de 18 de setembro de 2002. "**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"**, endereço: http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=8932, Acesso em 18/07/2015.

BRASIL,*Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. Instrução Normativa nº. 68, de 12 de dezembro de 2006. "**Métodos Analíticos Oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos**", disponível em http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472, Acesso 08/07/2015 ás 18 horas.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite Cru Refrigerado, do Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos a esta Instrução Normativa**, Brasília, DF, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 7, DE 2 DE MARÇO DE 2010. **Aprovar o Método Oficial de Determinação de**

**CMP em leite, por HPLC, Eletroforese Capilar e Espectrometria de Massas em leite, em apresentações integrais, semidesnatadas e desnatadas, tratados por processos de UHT ou pasteurização.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, página 5, de 03/03/2010, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 14, DE 27 DE ABRIL DE 2007.**Métodos Analíticos Físico-Químicos para Detecção da Maltodextrina em Leite, em conformidade com o Anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, Página 5, de 03/05/2007.

BRITO, M.A.V.P. **Influência das células somáticas na qualidade do leite.** In. Martins, C.E.; Costa, C.N.; Brito, J.R.F.; Yamaguchi, L.C.T.; Pires, M. de F.A. Minas Leite I., 1999, Juiz de Fora. Qualidade e produtividade de rebanhos leiteiros. Anais, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1999. p. 41-46. Furtado, Marco Antônio Moreira; Fraudes em leite de consumo; I Simpósio de Qualidade do Leite e Derivados UFRRJ – Seropédica, RJ – 16 a 19 de Agosto de 2010; Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Juiz de Fora.

CÓSSIO, *Daniel;* **RS foi o Estado que mais cresceu em produção de leite entre 2012 e 2013, aponta IBGE; 2014**; Disponível em: http://www.rs.gov.br/conteudo/208774/rs-foi-o-estado-que-mais-cresceu-em-producao-de-leite-entre-2012-e-2013-aponta-ibge Acesso em 10/07/2015.

DRACZ,S;**Desenvolvimento de um método para análise de soro de queijo em leite;** 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, MG,1996.

FERRÃO et al. LS-SVM: **Uma nova ferramenta quimiométrica para regressão multivariada.**

**Comparação de modelos de regressão LS-SVM e PLS na quantificação de adulterantes em leite em pó empregando NIR.** Química Nova, n. 4, v. 30, p. 852-859, 2007.

FIRMINO, Fernanda Cristina; Talma, Simone Vilela; Martins, Maurilio Lopes; Leite, Maurício de Oliveira; Martins, Aurélia Dornelas de Oliveira; **Detecção de fraudes em leite cru dos tanques de expansão da região de Rio da Poma MG**, Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, Set/Out, nº 376, 65: 5-11, 2010 Pág. 5.

FURTADO, Marco Antônio Moreira; Palestra: **Fraudes em leite de consumo**; I Simpósio de Qualidade do Leite e Derivados UFRRJ – Seropédica, RJ – 16 a 19 de Agosto de 2010; Disponível em: http://r1.ufrrj.br/simleite/Marco%20Furtado.pdf Acesso em 07/07/2015 ás 15horas.

LEMAY, D.G.; Rijnkel, M.; Germany, J.B. **Lessons from the bovine genome: Implications for human nutrition and research**. The Journal of Nutrition, p. 1271-1272, 2009.

LIMA, M. C. G.; Sena, M. J.; Mota, R. A.; Mendes, E. S.; Almeida, C. C.; Silva, R. P.P. E. **Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na região do Agreste do estado de Pernambuco**. Arquivos do Instituto Biológico, v. 23, n. 1, p. 89-95, 2006.

MAPA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; **Determinação do índice de caseíno-macropeptídeo em leite por cromatografia de exclusão por tamanho**; MAPA/SDA/CGAL Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/RS Laboratório de Produtos de Origem Animal/SLAV Método de Ensaio – MET;Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/POA/Leite%20e%20Produtos%20Lacteos/MET%20POA%20SLAV%2003%2006%20Caseinomacropeptideo.pdf. Acesso em 06/12/2015 ás 16 horas.

MENDONÇA, A.H. **Qualidade físico-química de leite cru resfriado: comparação de diferentes procedimentos e locais de coleta**. *In: Congresso Nacional de Laticínios, 18, 2001, Juiz de Fora. Anais do Congresso Nacional de Laticínios.* Juiz de Fora: Templo. 2001.p.276-282.

PELLEGRINI et. al. **Características físico-químicas de leite bovino, caprino e ovino.** Synergimus Scyentifica, n. 1, v. 7, 2012.

PINTO, A. T.; Zanela, M. B.; Ribeiro, M. E. R.; Fernandez V. N. V.; Santos, J. O. **Correlação entre os métodos infravermelho e ultrassom na determinação da composição química do leite das vacas do concurso leiteiro da Expointer**;2007. Acta Scientiae Veterinariae. 36(3): p. 273- 276. 2008.

PONSANO, E. H. G; Perri, S. H. V; Madureira, F. C. P; Paulino, R. Z; Camossi, L. G. **Correlação entre métodos tradicionais e espectroscopia de ultrassom na determinação de características físico-químicas do leite** *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.,* v. 59, n. 4, p. 1052-1057, 2007

PRATA, L.; **Fundamentos de Ciências do Leite.** São Paulo: Funep-Unesp. 2001; 214p.

PRATA, L.F.; PRATA, C.B. **Determinação de GMP e CMP no leite por métodos espectrofotométrico (ANSM) e cromatográfico (HPLC) – Parâmetros metodológicos;** Archives of Veterinary Science, n. 2, v. 17, p. 29-39, 2012.

RODRIGUES, P. H. M.; **1º Curso Online Sobre Qualidade do Leite: Fatores não microbiológicos afetando acidez do leite e outras características**. Milk Point; Instituto Fernando Costa, 2011. Disponível em: http://www.agripoint.com.br/curso/qualidade-leite/. Acesso: 10/07/2015 ás 17h.

SANTOS, Jakline Magela dos; **Leite cru refrigerado: características físico-quimicas, microbiológicas e desenvolvimento de microorganismos psicrotróficos**;Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri;Diamantina-MG; 2010

SHARMA, K.; Paradakar, M; **The melamine adulteration scandal**; Food Security; number 2, p. 97-107;2010.

SILVA, A.C.O., Hood, C.; Silva, F.E.R.; Mársico, E.T. **Detecção de fraudes em leite beneficiado e verificação dos métodos analíticos para análise de leite fluido**. Encontro de iniciação à científica. Prêmio UFF Vasconcelos. Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2010.

SIQUEIRA, K. B.; Carneiro, A. V. **Principais indicadores leite e derivados: boletim eletrônico mensal**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, v. 5, n.39, 13 fev. 2012. Disponível em: http://www.cileite.com.br/sites/default/files/2012_02_indicadores_leite.pdf Acesso em: 10/07/2015.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite.** 3ed. Santa Maria: UFSM, 2008; 206p.

TSENKOVA, R.; Atanassovas S.; Itoh, K.; Ozaki, Y.; Toyoda, K. Near**-Infrar Ed Spectroscopy for biomonitoring cow milk composition in a spectral region from 1, 100 to 2,400 nanometers**. Journal of Animal Science, v. 78, p. 515-522, 2000.

TSENKOVA, R.; Atanossovas, S.; Toyoda, K., OzakiI, Y.; Fearn T. **Near-Infrared Spectroscopy for Dairy Management: Measurement of Unhomogenized Milk Composition.** Journal of Dairy Science, v. 82, n. 11, 1999.

WANDERLEY, Carolina Hood; Silva,Adriana Cristina de Oliveira; Silva, Flávia Emily Rodrigues da; Mársico ,Eliane Teixeira; Junior,Carlos Adam Conte; **Avaliação da Sensibilidade de Métodos Analíticos Para Verificar Fraude em Leite Fluido** Rev. de Ci. da Vida, RJ, EDUR, v. 32, n 2, jul / dez, p. 34-42, 2012.

ZAFALON, L. F.; FILHO, A. N.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D. **Mastite subclínica causada por Staphylococcus aureus: custo benefícioda antibioticoterapia de vacas em lactação**. Arq. Brás. Méd. Vet. Zootec., v.59, n.3, p.577-585, 2007.