

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROJETO DESPERTANDO PARA A CIÊNCIA

OFICINA DE LEITE

Análises físico-químicas para o controle de qualidade

PONTA GROSSA

2017

ATIVIDADE PRÁTICA

Amostragem:

A coleta do leite deve ser feita no produto homogêneo e a amostra armazenada em frascos que permitam mistura antes das análises, mas prevenindo a separação de gordura durante o transporte.

Quando houver dificuldade na homogeneização deverá ser coletado em pontos diferentes do tanque no mínimo 200 mL de amostra (PEREIRA, 2001).

Nas análises homogeneizar a amostra a 15°C, agitando e invertendo o recipiente ou embalagem 5 ou 6 vezes. Quando a amostra contiver grumos de creme, aquecer de 38 a 40 °C em banho-maria e resfriar até 15 °C, agitando ocasionalmente (BRASIL, 2006).

Para queijos a amostragem deve ser feita de forma que a amostra contenha todas as partes do queijo, desde o centro até a casca, inclusive os fungos quando houver, e acondicionadas em recipientes de forma e tamanho adequados pra que não haja compressão. As amostras devem acompanhar informações como local, data e hora da coleta, indicação se a amostra é proveniente de sub amostras e local de destino da amostra (PEREIRA, 2001).

Para análises deve-se retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa e conservar em geladeira (BRASIL, 2006).

Teste do Álcool:

É um teste rápido realizado nas plataformas de recebimento do leite com o objetivo de estimar a estabilidade térmica do leite em presença de solução alcoólica, cuja graduação empregada é proporcional ao rigor requerido no teste.

A coagulação ocorre por efeito da elevada acidez ou de desequilíbrio salino, quando se promove desestabilização das micelas pelo álcool.

- Método: Transferir para um tubo de ensaio 2mL de leite e acrescentar 2 mL de álcool 70 °GL, misturar cuidadosamente.

Resultado:

Coagulado: leite sem resistência térmica;

Coagulação fina: leite com pequena resistência térmica;

Sem coagulação: leite normal.

Referência:

PEREIRA, D. B. C. et al. Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos. 2. ed. rev. ampl. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001.p 23.

: Teste de Alizarol

Também realizado nas plataformas de recebimento de leite, o teste de alizarol é utilizado para uma rápida análise da acidez do leite. A ocorrência de coagulação por efeito da elevada acidez ou do desequilíbrio salino, quando se promove desestabilização das micelas pelo álcool. O alizarol atua como indicador de pH, auxiliando a diferenciação entre o desequilíbrio salino e a acidez excessiva.

- Método: Transferir para um tubo de ensaio 2mL de leite e acrescentar 2 mL de alizarol 70 °GL, misturar cuidadosamente.

Resultado:

Coloração violeta: suspeita de fraude com alcalinos ou com água;

Coloração róseo-salmão com coagulação: suspeita de desequilíbrio salino;

Coloração róseo-salmão sem coagulação: leite normal;

Coloração amarela com coagulação: leite ácido.

Referência:

BRASIL. Leis, Decretos, etc. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Diário Oficial, Brasília, 2006, p.8.

PEREIRA, D. B. C. et al. Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos. 2. ed. rev. ampl. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001.p 23-24.

Densidade:

O leite é uma emulsão de gordura em água e sua densidade fornece informações sobre a quantidade de gordura nele contida. De maneira geral, um acréscimo de gordura provoca uma diminuição no valor da densidade

A densidade do leite varia entre 1,023 e 1,040 g/mL a 15°C e o valor médio é 1,032g/mL. Leite com alto teor de gordura apresenta maior densidade em relação a leite com baixo teor de gordura, devido ao aumento do extrato seco desengordurado que acompanha a elevação no teor de gordura.

A determinação da densidade é feita em função do princípio de Arquimedes, assim, a imersão de um densímetro de massa constante no líquido provocará deslocamento de uma quantidade deste, que será, em massa, igual ao densímetro utilizado e em volume, proporcional à densidade da amostra. O valor poderá ser lido diretamente na escala do densímetro, sendo expresso em graus densitométricos.

- **Método:**

- ▶ Transferir para uma proveta de 500mL, evitando a formação de espuma, aproximadamente 500 mL de leite preferencialmente a 15°C;
- ▶ Introduzir cuidadosamente o lactodensímetro, girando-o;
- ▶ Após a estabilização, anotar a temperatura e a densidade (caso temperatura for diferente de 15° usar tabela de correção – ANEXO I).

Referência:

PEREIRA, D. B. C. et al. Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos. 2. ed. rev. ampl. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001.p 29-31.

Acidez:

O controle da acidez é importante para detectar alterações no produto e problemas na conservação.

O leite, logo após a ordenha, não apresenta acidez devido ao ácido láctico, mas sim à presença de caseínas, fosfatos, albumina, dióxido de carbono e citratos.

A acidez natural do leite varia entre 0,13-0,17%, expressa como ácido láctico, ou entre 13 e 17 °Dornic. A elevação da acidez é determinada pela hidrólise da lactose por enzimas microbianas, com formação de ácido láctico,

caracterizando a acidez desenvolvida do leite. Tanto a acidez natural como a acidez desenvolvida são quantificadas, simultaneamente, em titulações por soluções alcalinas.

Sua determinação consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida (hidróxido de sódio), utilizando como indicador fenolftaleína 1%. O resultado pode ser expresso em °Dornic ou em % de ácido láctico.

Pode-se utilizar o acidímetro para realizar análises de acidez, que apresenta fácil manipulação e cálculo. A solução utilizada neste instrumento é o hidróxido de sódio com normalidade 1/9 (solução Dornic), ou seja, 0,111 N.

O procedimento de titulação é o mesmo: titular 10mL de leite com gotas de fenolftaleína até o ponto de viragem. O cálculo da acidez é facilitada, já que cada 0,1mL da solução usada corresponde a 1°Dornic.



- Método:

Acidez em Leite:

- ▶ Transferir para um erlenmeyer 10mL de leite utilizando pipeta volumétrica;
- ▶ Adicionar 3 a 5 gotas de fenolftaleína;
- ▶ Titular com solução de hidróxido de sódio até o ponto de viragem, que se compreende da mudança de cor branca para róseo claro;

- ▶ Anotar o resultado.

Acidez em Queijos:

- ▶ Pesar em uma proveta de 250 mL, 10 g de amostra;
- ▶ Acrescentar cerca de 50 mL de água destilada a 40°C;
- ▶ Misturar com bastão de vidro até formar uma pasta homogênea;
- ▶ Esfriar em água corrente e completar o volume para 100 mL;
- ▶ Transferir para um béquer de 250 mL;
- ▶ Adicionar 3 a 5 gotas de fenolftaleína 1%, e
- ▶ Titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L até leve coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos.

Resultado: A acidez, expressa em % de ácido láctico, pode ser calculada pela fórmula:

$$A = \frac{Ci \times fc \times V \times 9}{\text{mL ou g}}$$

Sendo:

A: Acidez expressa em percentual de ácido láctico (m/v);

Ci: Concentração da solução de hidróxido de sódio (mol/L);

fc: fator de correção da solução de hidróxido de sódio;

V: volume gasto da solução de hidróxido de sódio na titulação;

mL ou g: volume da amostra ou massa de amostra;

- Cada 0,01 % de ácido láctico corresponde a 1° Dornic.
- 0,1 mL de solução de hidróxido de sódio 0,11N equivale a 1° Dornic

Referência:

BRASIL. Leis, Decretos, etc. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Diário Oficial, Brasília, 2006, p.8.

CECCHI, H. M. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. p. 116.

PEREIRA, D. B. C. et al. *Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos*. 2. ed. rev. ampl. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001.p 27-29; 123-124.

pH:

O pH do leite é ligeiramente ácido, compreendido entre 6,6 e 6,8, a 25 °C. O colostro apresenta pH em torno de 6,25 a 6,46 e, em caso de animais com mamite, a pH pode chegar a 7,5.

O leite apresenta considerável efeito tampão, especialmente em pH entre 5 e 6, em razão da presença de dióxido de carbono, proteínas, citratos, lactatos e fosfatos.

Para sua medição utiliza-se pHmetros, que mede o potencial hidrogeniônico da amostra, resultando em unidades de pH.

- **Método:**

- ▶ Ligar o pHmetro e verificar os níveis dos eletrólitos dentro dos eletrodos;
- ▶ Calibrar o pHmetro com solução tampão 7,0 e 4,0;
- ▶ Usar água destilada para lavar o eletrodo antes de qualquer medida e secar;
- ▶ Determinar pH da amostra fazendo a leitura com precisão de 0,01 unidades de pH.

pH de leite: Por ser um produto líquido, claro e que não contém gás, a medida pode ser direta.

pH em queijo: devem ser macerados e homogeneizados, e os eletrodos são enfiados dentro da massa da amostra em pelo menos três pontos diferentes e depois é feita a média dos valores.

Referência:

CECCHI, H. M. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. p 110.

Gordura:

O teor de gordura de amostras de leite é medido através do método do butirômetro, o qual se baseia na separação e quantificação da gordura por meio do tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico.

O ácido dissolve as proteínas que se encontram ligadas à gordura, diminuindo a viscosidade do meio, aumentando a densidade da fase aquosa e fundindo a gordura, devido à liberação de calor proveniente da reação, o que favorece a separação da gordura pelo extrator (álcool isoamílico).

A leitura é feita diretamente na escala do butirômetro após centrifugação em centrífuga de Gerber.

- Método:

Gordura em leite:

- ▶ Transferir para o butirômetro Gerber, 10mL de ácido sulfúrico ($d=1,825$ g/L);
- ▶ Adicionar cuidadosamente 11mL de leite utilizando pipeta volumétrica;
- ▶ Adicionar 1 mL de álcool isoamílico;
- ▶ Limpar o gargalo com papel absorvente e vedar;
- ▶ Agitar vigorosamente;
- ▶ Centrifugar por 4 a 5 minutos em centrífuga de Gerber;
- ▶ Deixar em banho-maria ($65-66^{\circ}\text{C}$) por 2 a 3 minutos;
- ▶ Fazer a leitura na escala do butirômetro.

Gordura em queijo:

- ▶ Pesar rigorosamente 3g da amostra no copinho do butirômetro de Van Gulik e adaptá-lo ao butirômetro;
- ▶ Colocar 5mL de água destilada fria no butirômetro;
- ▶ Transferir lentamente para o butirômetro 10 mL de ácido sulfúrico ($d=1,825$ g/L);;
- ▶ Limpar o gargalo com papel absorvente e tampar;
- ▶ Agitar vigorosamente, alternando com imersões em banho-maria até dissolução completa das proteínas;
- ▶ Adicionar 1 mL de álcool isoamílico e água destilada a 65° até zerar a escala do butirômetro;
- ▶ Limpar o gargalo, tampar e agitar vigorosamente;

- ▶ Centrifugar por 4 a 5 minutos na centrífuga de Gerber;
- ▶ Deixar em banho-maria (65 – 66°C) por 2 a 3 minutos, fazer a leitura na escala do butirômetro.

Referência:

PEREIRA, D. B. C. et al. *Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos*. 2. ed. rev. ampl. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001.p 32-33; 121-122.

Extrato Seco:

O extrato seco é constituído pela fração sólida do produto, no caso do leite está em torno de 12,75%, variando para os diferentes tipos de queijos.

O método para a obtenção do valor de Extrato Seco Total (E.S.T.) baseia-se na remoção da água por aquecimento, sendo o ar quente absorvido por uma camada muito fina do alimento e então conduzido ao interior por condução. Como a condutividade térmica dos alimentos é geralmente baixa, leva muito tempo para o calor atingir as camadas mais internas do alimento.

- **Método:**

- ▶ Colocar em uma metade de uma cápsula de alumínio areia purificada e um bastão de vidro apoiada na borda do recipiente;
- ▶ Dessecar em estufa à $102 \pm 2^\circ\text{C}$ por 1 hora e esfriar em dessecador;
- ▶ Pesar o recipiente em balança analítica e anotar a massa;
- ▶ Tarar a balança e pesar aproximadamente 5g da amostra direto no recipiente com areia;
- ▶ Anotar a massa;
- ▶ Dessecar em estufa à $102 \pm 2^\circ\text{C}$ por 6 a 18 horas ou até massa constante;
- ▶ Esfriar em dessecador e pesar.

Referência:

CECCHI, H. M. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. p 36-38.

Extrato Seco total por método indireto (Disco de Ackermann):

A utilização do disco de Ackermann permite determinar o teor de extrato seco total por meio dos valores de densidade e do teor de gordura.

Para verificar o valor do extrato seco total por este instrumento, deve-se fazer coincidir as graduações dos círculos internos e médio, correspondentes à densidade e à gordura, respectivamente. A posição da flecha indicará, no círculo externo, o extrato seco total por cento m/v.

Referência:

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4.ed. São Paulo: IAL, 2008. p 834.

Teor de Minerais:

Após dessecação a amostra é submetida à incineração (550°C). Assim, a fração orgânica da amostra é volatilizada como dióxido de carbono e água, permanecendo apesar as cinzas, que são uma estimativa do teor de minerais da amostra.

- **Método:**

- ▶ Esfriar cadinhos posteriormente incinerados na mufla (550° por 30 minutos) em dessecador e tarar;
- ▶ Pesar diretamente a amostra;
- ▶ Incinerar vagorosamente na chama até começar a amostra começar a fumegar;
- ▶ Incinerar em mufla a 500-600°C;
- ▶ Deixar aproximadamente 2 horas na mufla, ou até que não haja matéria escura no cadinho.
- ▶ Esfriar em dessecador e pesar.

Amostras líquidas ou úmidas, como é o caso de leite e queijos, devem ser secas em estufa antes da determinação de cinzas. É comum utilizar a amostra que foi usada para determinação de extrato seco.

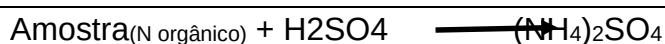
Referência:

CECCHI, H. M. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. p 52.

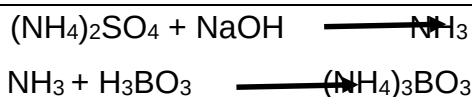
Nitrogênio e conteúdo protéico:

Para determinação de proteína será utilizado o método de Kjeldahl. Este método envolve três etapas: digestão da amostra, destilação e titulação.

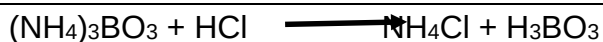
A digestão é feita pelo ácido sulfúrico, à quente, em presença de catalisadores, rompendo a estrutura protéica para a liberação do nitrogênio sob a forma de sais de amônio.



Após essa etapa, o resíduo é neutralizado com hidróxido de sódio, que causa a liberação da amônia, a qual é destilada e captada por uma solução de ácido bórico adicionado de indicadores, formando borato de amônio.



O borato de amônio será titulado com solução de ácido clorídrico para a quantificação do teor de nitrogênio da amostra.



- Método:

- ▶ Pesar 0,5g de amostra em um tubo de Kjeldahl;
- ▶ Tarar e adicionar 1,5g de catalisador;
- ▶ Adicionar 6mL de ácido sulfúrico p.a.;
- ▶ Digerir em bloco digestor até que a amostra fique clara, em temperatura máxima de 350 °C (aumentar a temperatura gradualmente de 50 em 50 °C)
- ▶ Manter em aquecimento por mais 1 hora;
- ▶ Aguardar esfriar até temperatura ambiente;
- ▶ Adicionar pequena quantidade de água aos tubos, lavando as paredes;
- ▶ Acoplar no destilador de nitrogênio;
- ▶ Neutralizar com hidróxido de sódio 50%;

- ▶ Coletar o destilado em erlenmeyer contendo 10 mL de ácido bórico 3%, até aproximadamente 100 mL de destilado;
- ▶ Titular com solução de ácido clorídrico até viragem da cor verde para roxa.

Resultado: Calcula-se o percentual de nitrogênio total pela equação:

$$\%NT = \frac{A \times Ci \times fc \times 1,4}{g}$$

$$\% \text{ proteínas} = \% \text{ nitrogênio total} \times F$$

Sendo:

%NT: teor percentual (m/m) de nitrogênio total;

A: Volume gasto da solução de ácido clorídrico na titulação;

Ci: Concentração da solução de ácido clorídrico (mol/L);

fc: fator de correção da solução de ácido clorídrico;

g: porção alíquota da amostra;

F= fator de conversão da relação nitrogênio/proteína; F = 6,38

Referência:

CECCHI, H. M. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. p. 60-70.

PEREIRA, D. B. C. et al. *Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos*. 2. ed. rev. ampl. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. p 127 -129.

Crioscopia:

É a medida do ponto de congelamento ou a depressão do ponto de congelamento do leite em relação ao da água.

Em um leite contendo 12,5% de extrato seco o ponto de congelamento aproximado é -0,531°C (-0,550°H), em razão da depressão do ponto de congelamento causada pela lactose (0,296 °C), pelos sais (0,119°C) e por outros constituintes dissolvidos.

A determinação de fraude no leite por adição de água é a aplicação mais usual da crioscopia em laticínios, em razão da diminuição do valor nutricional, do aumento dos custos de transporte e da energia empregada no processamento, da queda do rendimento na fabricação de derivados e da contribuição para contaminação microbiana. A estimativa da fraude por adição de água deve levar em consideração o ponto de congelamento normal para o leite, particularmente em função da época do ano, clima, raça, alimentação do gado e região geográfica.

A crioscopia também é útil em programas de gerenciamento de qualidade do processamento de leite e derivados.

O meio mais eficaz de se atingir o ponto de congelamento de uma solução é resfriá-la alguns graus abaixo do seu ponto de congelamento e, então, aplicar forte vibração mecânica. Esta vibração ocasiona um desequilíbrio térmico no interior da amostra, fazendo a solução liberar calor de fusão.

A temperatura sobe até o ponto de congelamento, no qual as fases sólida e líquida coexistem em equilíbrio, permanecendo constante por algum tempo, e neste período deve-se realizar a leitura.

Para a verificação do ponto de congelamento pode-se utilizar crioscópio manual ou eletrônico, e deve ser feita correção do valor em função da acidez em °Dornic.

Referência:

PEREIRA, D. B. C. et al. Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos. 2. ed. rev. ampl. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001.p 17.