

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

LUIZ EDUARDO FARAONI

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO III

**Dourados/MS
Julho/2018**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

Determinação de K e Na e análises físico-químicas de leites pasteurizados do município de Dourados

LUIZ EDUARDO FARAONI

Trabalho de conclusão de curso III, desenvolvido na Universidade Federal da Grande Dourados, como requisito parcial para a conclusão de curso.

Orientadora: Prof. Dra. Daniele Mignolo dos Santos.

Dourados/MS
Julho/2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

F219d Faraoni, Luiz Eduardo

Determinação de K e Na e análises físico-químicas de leites pasteurizados do município de Dourados / Luiz Eduardo Faraoni -- Dourados: UFGD, 2018. 30f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Daniele Mignolo dos Santos

TCC (Graduação em Biotecnologia) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Análise de qualidade. 2. leite pasteurizado. 3. fotometria de chama. 4. química analítica. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

LUIZ EDUARDO FARAONI

Determinação de K e Na e análises físico-químicas de leites pasteurizados do município de Dourados

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia na Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, pela comissão formada por:

Professora Dra. Daniele Mignolo dos Santos

Orientadora e Avaliadora

Professora Dra. Luciana Nuñez

Avaliadora

Ma. Ariane Maciel Neiva

Avaliadora

**Dourados/MS
Julho/2018**

*“Existe um fogo
E um movimento da alma que não perambula
em seu próprio ser estreito ,mas aspira
Além da apropriada média do desejo:
E uma vez inflamada, insaciável para sempre
Procura altas aventuras, nem pode se cansar
De nada, a não ser descanso.”*

Lord Byron

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me concedido a inteligência e a capacidade de aprender necessárias para que este trabalho pudesse ser concluído.

Á minha grande companheira de vida Maria Cecília de Lima Tibúrcio, com quem compartilhou junto a mim todos os momentos desafiadores desta etapa da minha graduação e, cujo apoio e companhia serão para sempre agradecidos.

Aos meus pais, Luiz Henrique Faraoni e Claudia Regina Marques Pinheiro, a quem devo toda minha educação e ensinamentos e, cujo suporte foi primordial para que minha faculdade fosse realizada.

Aos meus familiares que de alguma forma puderam me ajudar nas mais diversas situações. Em especial aos meus primos James Marcelo Eloy e Shirley Vianna que, de forma caridosa, proporcionaram todo o suporte necessário para minha estadia em Dourados.

Um enorme agradecimento à minha orientadora de trabalho de conclusão de curso Daniele Mignolo dos Santos, que de formas tantas, me proporcionou conhecimento e suporte, para que eu conclui-se este trabalho.

Ao Prof. Heberth Juliano Vieira e ao técnico Marcos Henrique Pereira Wondracek, por terem propiciado aparatos técnicos e teóricos fundamentais, cuja ajuda tornou-se indispensável. Agradeço-os grandiosamente.

E a todas as grandes amigas que conquistei nesses últimos anos que, contribuíram de uma forma ou de outra para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

O leite é um alimento altamente nutritivo e indispensável para o homem. Desde o momento do seu nascimento o ser humano utiliza o leite como fonte de alimento, e com o passar do tempo também irá utilizá-lo como matéria-prima para a produção de diversos subprodutos. Com o intuito de melhorar a qualidade da vida humana, a ciência e a tecnologia de alimentos contribuíram com sua parte visando disponibilizar alimentos mais nutritivos e acessíveis à população. O avanço das técnicas de produção, processamento e distribuição do leite favoreceram ainda mais o seu consumo humano, principalmente o de origem bovina. Porém, cada etapa relacionada à produção e industrialização do leite pode provocar alterações em sua composição, microbiologia e em suas características sensoriais, podendo comprometer o produto final. A composição do leite é crucial para o estabelecimento de sua qualidade nutricional. Os sais de Na e K, por exemplo, são muito importantes na saúde humana por desempenharem uma função fisiológica no equilíbrio homeostático. Avaliar a composição do leite é importante para certificar que o produto final esteja dentro dos critérios exigidos pelas instituições de controle de qualidade do país. Além disso, análises físico-químicas são úteis para a pesquisa de adulterações, muitas vezes encontradas no leite. Nesse trabalho foram determinados os constituintes K e Na em amostras de leites pasteurizados de Dourados pelo método da fotometria de chama. As análises de densidade, pH e acidez foram utilizadas como ferramentas auxiliares para a descoberta de fraudes e para avaliar a qualidade desses produtos. Os resultados obtidos nessas determinações apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Palavras-chave: Análise de qualidade, leite pasteurizado, fotometria de chama, química analítica.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. . A produção de leite e a sua importância na alimentação humana.....	1
1.2 Laticínios no Brasil.....	1
1.3 Composição do leite.....	2
1.4 Tratamentos térmicos do leite.....	5
1.5 Leites pasteurizados comercializados no Brasil.....	6
2. OBJETIVOS.....	8
2.1 Objetivo geral.....	8
2.2 Objetivos específicos.....	8
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	9
3.1 Reagentes e amostras.....	9
3.2 Instrumentação.....	9
3.2.1 Fotômetro de chama.....	9
3.2.2 Medidas de pH.....	9
3.3 Procedimentos experimentais.....	10
3.3.1 Determinação da densidade das amostras de leite.....	10
3.3.2 Deteminação do pH das amostras de leite.....	10
3.3.3 Determinação da acidez das amostras de leite.....	10
3.3.4 Determinação de K e Na em amostras de leite.....	11
3.3.4.1 Preparo das amostras de leite em meio alcalino.....	11
3.3.4.2 Preparo das soluções analíticas de referência de Na e K.....	11

3.3.5 Método de adição de analito para a determinação de K em amostras de leite.....	12
3.3.6 Método de adição de analito para a determinação de Na em amostras de leite.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	14
4.1. Análises físico-químicas das amostras de leite.....	14
4.2. Validação dos métodos de determinação de K e Na em leite.....	16
4.2.1. Método de adição de analito para a determinação de K em leite.....	16
4.2.2. Método de adição de analito para a determinação de Na em leite.....	18
4.3. Determinação de K e Na em amostras de leites pasteurizados.....	20
5. CONCLUSÃO.....	21
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1. Introdução

1.1. A importância do leite na alimentação humana

A importância da ciência e da tecnologia de alimentos na melhoria da qualidade de vida do ser humano é ressaltada pela necessidade de se obter alimentos saudáveis, altamente nutritivos, disponíveis e acessíveis à população. Desde o nascimento do ser humano, o leite apresenta-se quase indissociável de sua alimentação e, os avanços nas técnicas relacionadas às etapas de produção, processamento e distribuição de leite têm favorecido ainda mais o seu consumo, particularmente o de origem bovina¹.

Desde a antiguidade, através da necessidade de sobrevivência, o homem identificou o leite como uma importante fonte nutricional, assim como seus principais derivados, o queijo e a manteiga². Porém, naquela época não se conhecia uma maneira eficiente de conservação e, durante anos, o leite era consumido apenas por quem o produzia. Apenas no século XIX, com o advento da ciência e das contribuições das pesquisas de Pasteur, houve a primeira técnica realmente eficiente para conservação de alimentos. Essa técnica ficou conhecida como Pasteurização, em homenagem ao seu descobridor³.

Ainda no século XIX, Bunssen e Kirchhoff com seus experimentos em espectroscopia e emissão atômica, puderam identificar metais através da coloração da chama em um queimador, atualmente denominado bico de Bunssen⁴. Isto, aliado ao avanço da bromatologia, possibilitou-se que alimentos fossem caracterizados quimicamente, através de uma determinada amostra.

Graças a esses e outros avanços científicos e tecnológicos, hoje é possível determinar a quantidade de cada um de seus constituintes, bem como a importância de cada um deles para a nutrição humana.

1.2. Composição do leite bovino

Vários são os componentes do leite. O constituinte que se apresenta em maior concentração é a água, acima de 80 % m^{-1} , como apresentado na Tabela 1. Os demais constituintes encontram-se em porcentagens muito menores. A porcentagem de gordura está em torno de 3,9 % m^{-1} , proteínas em torno de 3,3 % m^{-1} e os glicídios em

torno de 4,6 % m m⁻¹, sendo que todos estes componentes são sintetizados na glândula mamária (Tabela 1). Também existem pequenas quantidades de sais minerais, vitaminas e enzimas.

A composição média do leite bovino está especificada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição média do leite bovino.

Constituinte	Teor (% m m ⁻¹)	Variação (% m m ⁻¹)
Água	87,3	85,5-88,7
Lactose	4,6	3,8-5,3
Gordura	3,9	2,4-5,5
Proteínas	3,3	2,3-4,4
Substâncias minerais	0,65	0,53-0,80
Ácidos orgânicos	0,18	0,13-0,22
Outros	0,14	-

Fonte: Adaptado de SILVA, P. H. F.¹.

A água é o componente mais abundante no qual estão em solução os demais componentes. Alguns minerais encontram-se na forma de solução iônica, a lactose e a albumina na forma de solução verdadeira, a caseína e os fosfatos no estado de dispersão coloidal e a gordura na forma de pequenos glóbulos, caracterizando o leite como uma emulsão. A cor branca do leite deve-se ao resultado da dispersão da luz nas proteínas, gorduras, fosfatos e citrato de cálcio⁵.

A gordura é formada principalmente por triglicerídeos, cujos glóbulos encontram-se envoltos por uma membrana de natureza proteica. A principal proteína do leite é a caseína, que é definida como uma substância coloidal formada por várias submicelas, podendo sofrer coagulação por ação de ácidos e álcool. A lactose, que é um dissacarídeo de glicose e galactose, apresenta-se na fase aquosa do leite⁵.

O leite contém elevados teores de fósforo, potássio, sódio, cálcio e magnésio e baixos teores de ferro, alumínio, bromo, zinco e manganês, formando sais orgânicos e inorgânicos¹, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Composição do leite bovino integral.

Constituinte	Teor (mg / 100 g)
Magnésio	10
Cloreto ¹⁴	104 ± 29
Manganês	0 - 0,0050
Fósforo	82
Ferro	0 – 0,0050
Sódio	64
Potássio	133
Cobre	0,020
Zinco	0,40

Fonte: Tabela brasileira de composição de alimentos⁶

Existem alguns fatores que podem interferir e causar variação na quantidade de leite produzida e na sua composição. Esses fatores incluem: a espécie, a raça, a fisiologia do animal, a alimentação, as estações do ano, doenças, período de lactação, e até mesmo as fraudes e adulterações. A gordura é o componente que mais sofre variação em função da alimentação, raça, estação do ano e período de lactação¹.

1.3. Fraudes em amostras de leite

A presença de substâncias estranhas à composição normal do leite está ligada a fraudes, que podem acontecer logo após a ordenha até a fase de comercialização. Essas substâncias podem ser classificadas de acordo com a sua finalidade, podendo tratar-se de conservantes, de substâncias redutoras da acidez e de reconstituintes da densidade⁵. Existem quatro tipos principais de fraudes que estão descritas na Tabela abaixo.

Tabela 3. Principais fraudes encontradas no leite⁵.

Constituinte	Fraude
Água	Aumento do volume
Bicarbonato de sódio	Diminuição da acidez
Boratos, salicilatos e ácido salicílico	Mascarar o pH
Soro	Aumento do volume

Behmer⁷ salientou que era mais simples verificar fraudes em produtos industriais, quando comparado com a inspeção das fraudes ocorridas em um produto natural, como o leite. A justificativa da dificuldade de detectar fraudes nesta amostra ocorreria devido à composição do leite variar com a alimentação e a raça do rebanho. Porém, o autor explicou que conhecendo os valores médios de concentração dos constituintes do leite, valores em desacordo a estes, poderiam ser fraudes. Uma das fraudes descritas por Behmer⁷ foi efetuada para diminuir a acidez do leite, com a adição de bicarbonato de sódio.

Segundo Lisbôa & Bossolani² materiais indesejáveis já foram encontrados no leite para mascarar as fraudes. Relataram que amido e urina foram usados para manter a densidade normal do leite, após a adição de água a esta amostra. Afirmaram também que formol, antibióticos, ácido bórico e boratos e ácido salicílico e salicilatos foram usados para evitar a proliferação de microrganismos no leite.

A adição de boratos e salicilatos poderia provocar um aumento da concentração de sódio no leite, porque podem ter sido usados boratos e salicilatos de sódio e potássio, que são sais solúveis em água. Assim como também, o aumento de sódio no leite com o uso de bicarbonato de sódio. Portanto, a determinação de sódio em leite também é relevante para identificar o uso de sais de sódio, como bicarbonato, borato e salicilato, em fraudes nesta amostra. Então, determinar a concentração de Na em leite possibilitaria uma avaliação indireta das fraudes com bicarbonato, borato e salicilato. Em razão deste tipo de fraude, poderia ser incluída nas avaliações laboratoriais de rotina do leite a determinação do teor de Na.

Um outro tipo de fraude ocorrida no Brasil é com a adição de soro ao leite. Mendes et al.⁸ afirmaram que esta fraude com soro é muito comum, devido ao baixo custo do soro do leite e porque o soro é um subproduto na produção de queijos. Desenvolveram um método usando cromatografia gasosa para identificar os tempos de retenção de ácidos graxos no cromatograma de uma amostra de leite, comparando com o cromatograma de uma amostra de soro de leite.

Cassoli et al.⁹ empregaram a espectrometria de infra-vermelho para avaliar a adulteração de leite cru com sais e soro. Neste trabalho, foram adicionados, separadamente, bicarbonato de sódio, citrato de sódio e soro ao leite, simulando uma

amostra adulterada. Em seguida, as amostras adulteradas foram analisadas por espectrometria de infra-vermelho.

A adição de soro ao leite também aumentaria a quantidade de íons K^+ e íons Na^+ nesta amostra, porque íons sódio e potássio estão presentes no leite na fase aquosa. Portanto, a determinação de sódio e potássio também forneceria indícios deste outro tipo de fraude.

Devido sua composição físico-química e microbiológica, o leite é um alimento altamente perecível. Um dos cuidados, logo após sua obtenção, deve ser submetê-lo, o mais rápido possível, a algum processo que evite a multiplicação de microrganismos nele existentes, como um tratamento térmico⁵.

1.4. Tratamentos térmicos do leite

Os processos de aquecimento são os mais utilizados na indústria objetivando aumentar a vida de prateleira de um produto, variando-se a temperatura e o tempo de aquecimento. O calor empregado nesse tipo de tratamento promoverá a destruição dos microrganismos, inativando seus processos enzimáticos⁵.

A escolha do tratamento térmico a ser utilizado deverá considerar a natureza do produto e só será efetivo em condições sanitárias adequadas e com equipamentos próprios para esta finalidade⁵.

Dentre os tratamentos térmicos empregados para as amostras de leite estão a pasteurização e a esterilização, também chamada de UHT (Ultra High Temperature) ou UAT (Ultra Alta Temperatura).

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UAT do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, entende-se por leite UAT, o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 s, a uma temperatura entre 130 °C a 150 °C, e que é imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 4 °C, e é envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas¹⁰.

No processo de pasteurização, o leite é aquecido, em trocadores de calor, em temperaturas de 72 °C a 75 °C durante 15 a 20 s e imediatamente é resfriado a uma

temperatura igual ou menor do que 4 °C, e rapidamente é embalado. O objetivo da pasteurização é a destruição dos microrganismos patogênicos do leite, bem como da maior parte da sua flora saprófita, preservando o produto por um período de tempo maior⁵.

1.5. Leites pasteurizados comercializados no Brasil

Existem no Brasil dois tipos de leites pasteurizados, que foram classificados quanto aos padrões bacterianos¹¹.

- a) Leite pasteurizado tipo A: limite bacteriano na contagem padrão de $5,0 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^3$ UFC (unidade formadora de colônia) mL⁻¹;
- b) Leite pasteurizado: limite bacteriano na contagem padrão de $4,0 \times 10^4$ a $8,0 \times 10^4$ UFC mL⁻¹.

O leite tipo A é o leite pasteurizado e envasado na própria granja leiteira, sendo logo após transportado direto para as prateleiras dos mercados. O acompanhamento do gado leiteiro deve ser constante e com a supervisão de um profissional especializado, para evitar doenças que prejudiquem a qualidade do leite ordenhado. As exigências para o estabelecimento também são mais rigorosas, com laboratórios e câmaras de refrigeração bem estruturadas, para facilitar a higiene e a sanitização do local¹¹.

O leite pasteurizado possui um processo de produção semelhante ao leite tipo A, mas a pasteurização e o envasamento podem ser realizados fora da Granja leiteira, onde acontece a mistura com leites, do mesmo tipo, de outros produtores. Porém, deverá ser refrigerado na propriedade rural e transportado a granel, antes da pasteurização. Conseqüentemente, como o leite ainda não foi pasteurizado, poderia ocorrer à proliferação dos microrganismos. O leite pasteurizado deve ser transportado sob temperatura máxima de 4 °C, e levado ao comércio distribuidor através de veículos providos de isolamento térmico e com unidade frigorífica, para alcançar os pontos de venda com temperatura não superior a 7 °C¹¹.

O tratamento térmico pode alterar o teor de nutrientes de qualquer produto alimentício. Dependendo do tempo e da temperatura em que o leite é submetido, a digestibilidade das proteínas será maior ou menor e também poderão ocorrer

desnaturação e coagulação das proteínas e reação de Maillard⁵. No leite esterilizado, as alterações no seu teor proteico serão maiores quando comparadas com o leite pasteurizado, devido às temperaturas mais altas em que este leite é submetido.

Assim, um dos objetivos desse trabalho foi auxiliar na divulgação da maior qualidade do leite pasteurizado, quando comparado ao leite UAT e promover o aumento do consumo do leite pasteurizado da região de Dourados. O leite UAT é obtido em um processo térmico de esterilização. A esterilização, ao mesmo tempo em que destrói os microrganismos, destruirá também vitaminas devido ao uso de elevadas temperaturas. Além disso, são adicionados aditivos como trifosfato de sódio, difosfato de sódio, monofosfato de sódio e citrato de sódio a essas amostras de leites esterilizados¹². Em leites pasteurizados, não é permitida a utilização de aditivos⁵.

A qualidade do leite é controlada pelos institutos de saúde pública por meio de testes específicos que envolvem a determinação da densidade, do teor de gordura, da acidez, e da presença de aditivos usados para a conservação ou de materiais estranhos ao leite. Dessa maneira, é possível identificar as possíveis fraudes e adulterações nos leites comercializados.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Determinar as concentrações de Na e K e efetuar análises físico-químicas em amostras de leites pasteurizados da região de Dourados.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar K e Na usando a técnica de fotometria de chama;
- Determinar a acidez e o pH das amostras para avaliar a qualidade do leite pasteurizado;
- Determinar a densidade das amostras dos leites pasteurizados da região de Dourados;
- Caracterização de três amostras de leites pasteurizados de Dourados: Produtor A, Produtor B e Produtor C;
- Divulgação da maior qualidade do leite pasteurizado em relação ao leite UAT;
- Promover o aumento do consumo de leite pasteurizado na região de Dourados.

3. Parte experimental

3.1. Reagentes e amostras

Os seguintes reagentes foram utilizados nos diversos experimentos conduzidos: ácido cítrico ($C_6H_8O_7$, Sigma - Aldrich, Duque de Caxias, RJ, Brasil), solução de hidróxido de sódio (Alphatec), hidrogenoftalato de potássio (QM, Brasil), a amina trishidroximetilaminometano ($C_4H_{11}NO_3$, TRIS, Dinâmica, Brasil), cloreto de potássio (Merck, Alemanha) e cloreto de sódio (Merck).

Três amostras comerciais de leite integral e desnatado, todas produzidas pelo processo de pasteurização, foram empregadas.

Foram utilizados os gases ar e GLP (gás liquefeito de petróleo).

3.2. Instrumentação

Neste estudo foram empregados o fotômetro de chama para a determinação de K e Na e um pHâmetro para as medidas de pH.

3.2.1. Fotômetro de chama

As medidas foram realizadas em fotômetro de chama, MODELO Q398M2 da marca QUIMIS (Diadema, SP, Brasil). O equipamento possui uma câmara de combustão/atomização, um filtro interno para cada analito e um sistema de controle de ar e gás GLP com um dispositivo estabilizador de fluxo de gás, para assegurar a operação do instrumento caso haja flutuações das fontes de ar/gás externas.

3.2.2. Medidas de pH

As medidas de pH foram feitas empregando-se um eletrodo de vidro combinado da marca HANNA Instruments. O pHâmetro empregado foi do modelo pH 21 (Barueri, SP, Brasil).

3.3. Procedimentos experimentais

O procedimento experimental de determinação do pH, da acidez e da densidade foi empregado conforme os métodos oficiais para a análise de alimentos de origem animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento¹³.

3.3.1. Determinação da densidade das amostras de leite

O picnômetro foi previamente calibrado com água destilada. Pesou-se o picnômetro vazio e anotou-se a sua massa. Em seguida, pesou-se o picnômetro contendo o leite. As massas das amostras de leite foram obtidas descontando-se a massa do picnômetro com leite, da massa do picnômetro vazio. Com os valores médios das massas das amostras e com o volume real do picnômetro, obtido através da calibração, foi possível calcular a densidade das respectivas amostras, em triplicata.

3.3.2. Determinação do pH das amostras de leite

A determinação do pH das amostras foi feita com um medidor de pH digital. A calibração do eletrodo de vidro foi feita com as soluções tampão pH 4 e pH 7. Após a calibração, foram realizadas as medidas de pH das amostras de leite.

3.3.3. Determinação da acidez das amostras de leite

Após o preparo da solução de NaOH, padronizou-se esta solução com o padrão primário biftalato de potássio, em uma titulação. Para a determinação da acidez, 10,0 mL de leite foram transferidos, com o auxílio de uma pipeta, para um erlenmeyer. As amostras de leite foram tituladas com a solução padronizada de NaOH 0,1 mol L⁻¹ e a solução indicadora fenolftaleína, até as amostras atingirem uma coloração ligeiramente rósea.

3.3.4. Determinação de K e Na em amostras de leite

3.3.4.1. Preparo das amostras de leite em meio alcalino

As amostras de leite foram preparadas em meio alcalino, antes das medidas no fotômetro. O procedimento de preparo dessas amostras envolveu a diluição manual das amostras com uma solução contendo trishidroximetilaminometano + ácido cítrico ($1,52 \text{ mol L}^{-1} + 0,05 \text{ mol L}^{-1}$). Este preparo em meio alcalino de amostras de leite foi desenvolvido por Santos et al¹⁴.

A solução de TRIS com ácido cítrico foi obtida misturando-se uma massa de 0,48 g de ácido cítrico à uma solução da amina TRIS ($0,18 \text{ g mL}^{-1}$). Com a adição do ácido, ocorreu a dissolução da amina formando-se uma solução límpida. O volume foi ajustado em um balão volumétrico para 50,0 mL com água destilada. Preparou-se uma solução diluída $20 \% \text{ v v}^{-1}$ da mistura de TRIS com ácido cítrico, a partir da solução concentrada ($1,52 \text{ mol L}^{-1} + 0,05 \text{ mol L}^{-1}$).

As amostras de leite foram diluídas com a solução de TRIS com ácido cítrico $20 \% \text{ v v}^{-1}$, na proporção de $1:100 \text{ v v}^{-1}$. Utilizou-se essa diluição das amostras de leite, para que a concentração final de K e Na nas amostras ficassem dentro do intervalo linear de medidas de concentração, no fotômetro.

As concentrações de K e Na foram determinadas usando a técnica de espectroscopia de emissão atômica no equipamento de fotometria de chama. A intensidade do sinal de emissão dos analitos K e Na presentes nas amostras foram comparados com a intensidade do sinal de emissão das soluções de referência de K e Na, medida nos comprimentos de onda de 766 nm e 589 nm, respectivamente.

3.3.4.2. Preparo das soluções analíticas de referência de Na e K

Foram preparadas soluções de referência de Na e K para a construção da curva analítica. Os sais cloreto de sódio e cloreto de potássio foram previamente secos em estufa a $110 \text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 2 h. As massas dos sais de sódio e potássio foram respectivamente 2,542 g e 1,909 g dissolvidas separadamente em um volume de 1 L de água destilada, obtendo-se uma solução de 1000 mg L^{-1} de Na e uma solução de $939,9 \text{ mg L}^{-1}$ de K. Em seguida, foram preparadas as soluções de $100,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Na e $103,3 \text{ mg L}^{-1}$ de K, a partir da diluição das respectivas soluções de 1000 mg L^{-1} de Na e $939,9 \text{ mg L}^{-1}$ de K.

Para a determinação de K e Na prepararam-se as soluções de referência para a obtenção da curva analítica em meio de solução contendo 20 % v v⁻¹ de TRIS.

As seguintes soluções de referência foram preparadas a partir da solução estoque contendo 103,3 mg L⁻¹ de K:

- 1- 1,03 mg L⁻¹
- 2- 2,06 mg L⁻¹
- 3- 3,09 mg L⁻¹
- 4- 4,12 mg L⁻¹
- 5- 6,18 mg L⁻¹

As seguintes soluções de referência foram preparadas a partir da solução estoque contendo 100,0 mg L⁻¹ de Na:

- 1- 1,00 mg L⁻¹
- 2- 2,00 mg L⁻¹
- 3- 4,00 mg L⁻¹
- 4- 5,00 mg L⁻¹
- 5- 6,00 mg L⁻¹

Utilizou-se água destilada como solução de limpeza entre sucessivas introduções de diferentes amostras, no fotômetro. Essa etapa de limpeza é necessária para evitar o entupimento do nebulizador.

3.3.5. Método de adição de analito para a determinação de K em amostras de leite

As amostras de leite foram diluídas na proporção de 1:500 v v⁻¹ com uma mistura de TRIS 20 % v v⁻¹. Em seguida, 20 mL dessa amostra diluída foram transferidos para um balão volumétrico de 50 mL, juntamente com cada um dos padrões citados abaixo e em seguida, completou-se o volume com água destilada. Sabendo-se que a concentração média de K no leite é de aproximadamente 1400 mg L⁻¹ ¹⁵, a concentração final de K no volume de 20 mL da solução diluída de leite ficou em torno de 1,12 mg L⁻¹. Soluções padrões de K, previamente preparadas, foram usadas para a construção da curva analítica, respeitando os limites de detecção e quantificação do

fotômetro de chama. Este procedimento foi efetuado com amostras de leite integral e desnatado.

As seguintes soluções de referência foram preparadas a partir da solução estoque contendo $103,3 \text{ mg L}^{-1}$ de K mais 20 mL de leite diluído com a TRIS (1:500 v v⁻¹):

- 1- $1,03 \text{ mg L}^{-1}$ K + 20 mL leite diluído/ 50 mL
- 2- $2,06 \text{ mg L}^{-1}$ K + 20 mL leite diluído/ 50 mL
- 3- $3,09 \text{ mg L}^{-1}$ K + 20 mL leite diluído/ 50 mL
- 4- $4,12 \text{ mg L}^{-1}$ K + 20 mL leite diluído/ 50 mL
- 5- $4,95 \text{ mg L}^{-1}$ K + 20 mL leite diluído/ 50 mL

Utilizou-se água destilada como solução de limpeza entre sucessivas introduções de diferentes amostras, no fotômetro.

3.3.6. Método de adição de analito para a determinação de Na em amostras de leite

As amostras de leite foram diluídas na proporção de 1:200 v v⁻¹ com uma mistura de TRIS 20 % v v⁻¹. Em seguida, 20 mL dessa amostra diluída foram transferidos para um balão volumétrico de 50 mL e, completou-se o volume com água destilada. Sabendo-se que a concentração média de Na no leite é de aproximadamente 500 mg L^{-1} ¹⁵, a concentração final de Na na amostra adotada foi de 1 mg L^{-1} . Soluções padrões de Na e K, previamente preparadas, foram usadas para a construção da curva analítica, descrita abaixo. Este procedimento foi efetuado com amostras de leite integral e desnatado.

As seguintes soluções de referência foram preparadas a partir da solução estoque contendo $100,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Na mais 20 mL de leite diluído com a TRIS (1:200 v v⁻¹):

- 1- $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ + 20 mL leite diluído/ 50 mL
- 2- $3,00 \text{ mg L}^{-1}$ + 20 mL leite diluído/ 50 mL
- 3- $4,00 \text{ mg L}^{-1}$ + 20 mL leite diluído/ 50 mL
- 4- $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ + 20 mL leite diluído/ 50 mL
- 5- $6,00 \text{ mg L}^{-1}$ + 20 mL leite diluído/ 50 mL

Utilizou-se água destilada como solução de limpeza entre sucessivas introduções de diferentes amostras, no fotômetro.

4. Resultados e Discussões

4.1. Análises físico-químicas das amostras de leite

Na tabela 4 estão apresentados os resultados obtidos das análises físico-químicas realizadas.

Tabela 4. Análises físico-químicas das amostras de leite

Amostras de leites pasteurizados	Densidade (g mL ⁻¹)	pH	Acidez (% m v ⁻¹)
Produtor B integral	1,03 ± 0*	6,91 ± 0,14*	0,129 ± 0,10*
Produtor D integral	1,04 ± 0	6,86 ± 0,08	0,171 ± 0,15
tipo A desnatado	1,03 ± 0	6,97 ± 0,05	0,152 ± 0,10
tipo A integral	1,03 ± 0	7,01 ± 0,14*	0,146 ± 0,15
Legislação ¹¹	1,02 -1,03	6,6 – 6,8 ¹	0,14 – 0,18

* média ± desvio padrão (n=3)

Os resultados obtidos de densidade, conforme a Tabela 2, estão dentro da variação aceita pela legislação brasileira, que estabeleceu que a densidade do leite bovino poderá variar de 1,023 a 1,040 g mL⁻¹ (20 °C)¹.

A determinação da densidade auxilia na descoberta de fraudes, principalmente a adição de água em amostras de leite. O mascaramento deste tipo de adulteração é efetuado com a adição de substâncias que irão aumentar o teor de sólidos do leite. Os cloretos, por exemplo, são uns dos sais utilizados para esse fim, podendo então aumentar a quantidade de íons sódio no leite. Porém, é importante destacar também que vacas diagnosticadas com mastite podem apresentar um aumento na quantidade de cloretos no leite, em função da passagem de íons sódio e cloreto do sangue para a glândula mamária inflamada⁵. Por essa razão, um elevado teor de cloretos por si só não caracteriza uma adulteração.

O pH do leite bovino varia entre 6,6 a 6,8 a 20 °C¹. Os resultados obtidos de pH estão ligeiramente acima dos valores de pH de um leite adequado para consumo, de acordo com a Tabela 2.

O leite proveniente de animais com mastite é levemente alcalino, podendo atingir um valor de pH de 7,5¹. Portanto, o pH é um parâmetro que também pode ser usado para avaliar as condições de sanidade do rebanho.

O desenvolvimento da acidez do leite deve-se, principalmente, à degradação da lactose em ácido láctico, pela ação de microrganismos. Portanto, um leite com acidez muito alta pode indicar uma contaminação por microrganismos, tornando o produto impróprio para o consumo. O resultado obtido da acidez pode ser um indicador das condições de higiene e de refrigeração do leite, desde a ordenha até a chegada dessa amostra ao mercado consumidor.

A acidez natural do leite varia entre 0,13 a 0,17 % m v⁻¹, expressa como ácido láctico, de acordo com Silva et al¹.

Para mascarar a acidez, substâncias alcalinas já foram adicionadas ao leite, o que também caracteriza uma fraude. Os sais que já foram utilizados são bicarbonato de sódio e carbonato de sódio para mascarar essa fraude, dessa forma podendo aumentar mais uma vez a concentração de íons sódio no leite. Portanto, a determinação da concentração de íons sódio em leite poderia também ser um instrumento auxiliar nas investigações dessa adulteração.

4.2. Validação dos métodos de determinação de K e Na em leite

A interferência da matriz da amostra foi avaliada na determinação de K e Na usando o método de adição de analito, para amostras de leites integrais e desnatados. As medidas foram realizadas em triplicata. Variou-se a concentração dos analitos e manteve-se fixo o volume adicionado de leite. Foram adicionadas, separadamente, soluções de referência de K e Na de $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ a $6,00 \text{ mg L}^{-1}$ a 20 mL de amostras de leites pasteurizados diluídas, previamente. As amostras de leite foram diluídas na proporção de $1:500 \text{ v v}^{-1}$ para a determinação de K e $1:200 \text{ v v}^{-1}$ para a determinação de Na.

As concentrações de K e Na nas amostras de leite foram calculadas com a extrapolação da curva analítica, empregando-se as equações obtidas para cada uma das curvas apresentadas abaixo. As curvas analíticas obedeceram a Lei de Beer no intervalo em estudo.

4.2.1. Método de adição de analito para a determinação de K em leite

Na Figura 1 está apresentada a curva obtida com o método de adição de analito para a determinação de K em leite integral. A curva analítica obtida apresentou regressão linear ($r = 0,9968$) para as concentrações analisadas, comprovando que não houve interferência da matriz da amostra. Obteve-se com a respectiva equação: $y = 80,722 + 84,192 \times [\text{K}]$, um valor recuperado de $1,20 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$ de K em leite integral.

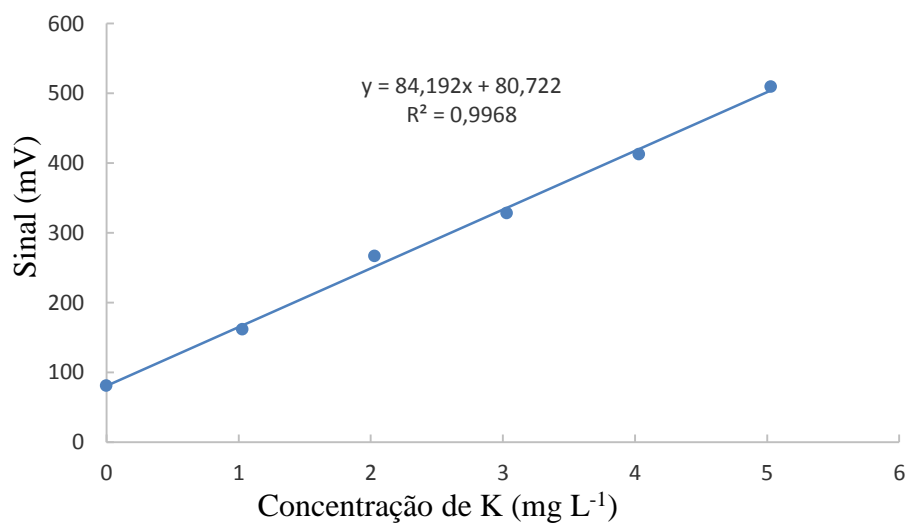


Figura 1. Curva de adição de analito para a determinação de K em amostra de leite pasteurizado integral.

Na Figura 2 está apresentada a curva obtida com o método de adição de analito para a determinação de K em leite desnatado. A curva analítica obtida apresentou regressão linear ($r = 0,9957$) para as concentrações analisadas, com a respectiva equação: $y = 93,965 + 75,998 x [K]$, obtendo-se o valor recuperado de $1,54 \times 10^3 \text{ mg L}^{-1}$ de K em leite desnatado.

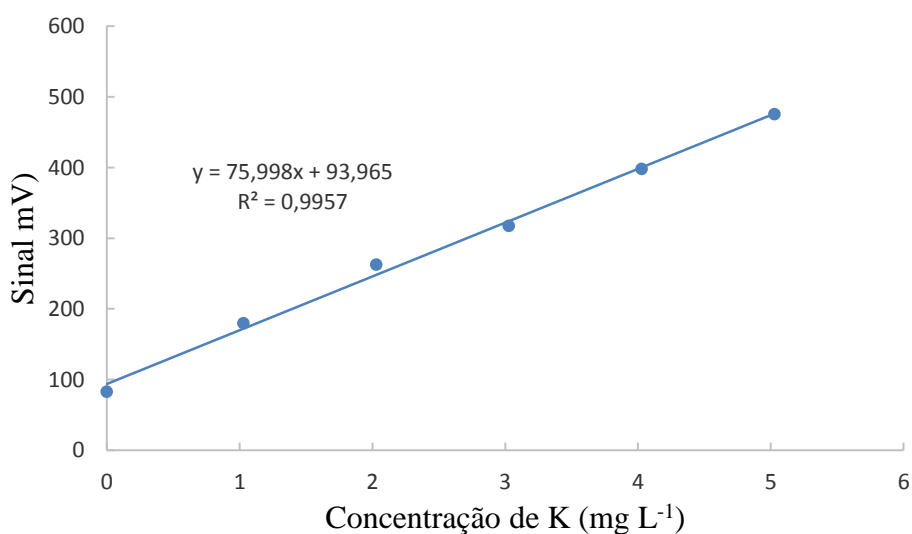


Figura 2. Curva de adição de analito para a determinação de K em amostras de leite pasteurizado desnatado.

Os valores dos coeficientes angulares das curvas de adição de analito para a determinação de K em amostras de leite integral e desnatado foram similares, como pode ser observado nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

4.2.2. Método de adição de analito para a determinação de Na em leite

A curva obtida com o método de adição de analito para a determinação de Na em leite integral está apresentada na Figura 3. A curva analítica obtida apresentou regressão linear ($r = 0,9872$) para as concentrações analisadas. Obteve-se com a respectiva equação: $y = 9,9048 + 9,5286 \times [\text{Na}]$, um valor recuperado de 520 mg L^{-1} de Na em leite integral.

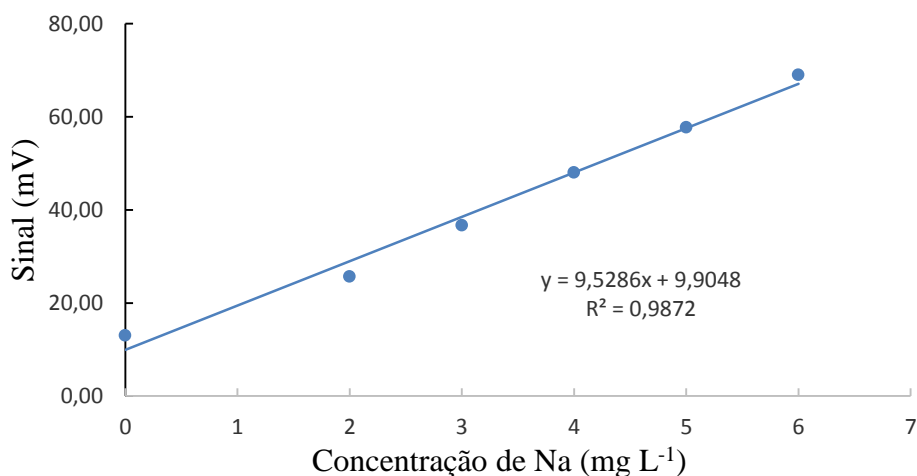


Figura 3. Curva de adição de analito para a determinação de Na em amostra de leite pasteurizado integral.

Na Figura 4 está apresentada a curva obtida com o método de adição de analito para a determinação de Na em leite desnatado. A curva analítica obtida apresentou regressão linear ($r = 0,9937$) para as concentrações analisadas. Obteve-se com a respectiva equação: $y = 9,9048 + 10,329 \times [\text{Na}]$, um valor recuperado de 480 mg L^{-1} de Na em leite desnatado.

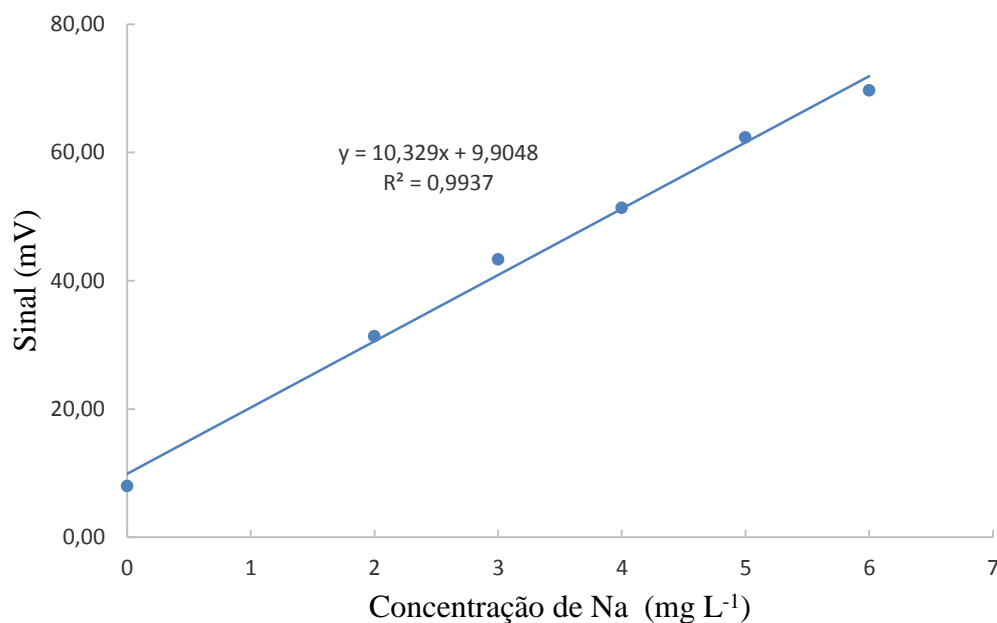


Figura 4. Curva de adição de analito para a determinação de Na em amostra de leite pasteurizado desnatado.

Os valores dos coeficientes angulares das curvas de adição de analito para a determinação de Na em amostras de leite integral e desnatado foram similares com os padrões da curva analítica, como pode ser observado na Tabela 5, assim como também na determinação de K (Tabela 6). Isso indica que não houve interferência dos demais constituintes do leite, ou seja, não houve efeito de matriz.

Tabela 5. Coeficientes angulares da determinação de Na.

	Coeficiente angular
Adição de analito em leite integral	9,53
Adição de analito em leite desnatado	10,3
Curva analítica	9,89

Tabela 6. Coeficientes angulares da determinação de K.

	Coeficiente angular
Adição de analito em leite integral	84,2
Adição de analito em leite desnatado	76,0
Curva analítica	81,1

4.3. Determinação de K e Na em amostras de leites pasteurizados

Após o preparo das amostras de leite em meio alcalino, K e Na foram determinados por emissão atômica em chama. Na Tabela 3 estão apresentados os resultados obtidos das concentrações de K e Na em amostras de leites pasteurizados integrais e desnatados, do município de Dourados.

Tabela 7. Concentração de K e Na em amostras de leites pasteurizados

Amostras de leite *	Na (mg L ⁻¹)	K (mg L ⁻¹)
Produtor B	560 ± 20,0**	1,37x10 ³ ± 45,8**
Produtor C	430 ± 10,0	1,42x10 ³ ± 58,6
tipo A desnatado	520 ± 10,0	1,48x10 ³ ± 60,8
tipo A integral	493 ± 56,9	1,33x10 ³ ± 94,5

** média ± desvio padrão (n=3)

* 1 mL de leite para 100 mL de solução de TRIS 20 % v v⁻¹.

Foram obtidos desvios padrões relativos inferiores a 5% nas concentrações de Na e K das amostras do Produtor B, C e tipo A desnatado, como apresentado na Tabela acima. Além disso, os valores determinados foram concordantes com as concentrações encontradas na literatura, de 1,40x10³ ± 35,8 mg L⁻¹ de K e 580 ± 10,0 mg L⁻¹ de Na em amostra de leite bovino, com uma variação de 1,13x10³ a 1,71x10³ mg L⁻¹ de K e 470 a 770 mg L⁻¹ de Na¹⁵.

Em uma sessão ininterrupta de trabalho de 8 h introduzindo amostras de leite diluídas somente com água no fotômetro de chama, poderia provocar o entupimento do nebulizador com partículas de gordura. Esse entupimento poderia ocorrer ainda que uma considerável diluição de 1:100 v v⁻¹ das amostras de leite tenham sido efetuadas com água. Portanto, foi necessário o preparo em meio alcalino das amostras de leite, e não somente uma diluição com água.

5. Conclusão

A proposta deste trabalho teve como objetivo avaliar as concentrações de Na e K em leites pasteurizados da região de Dourados, bem como propagar uma maior fonte de conhecimento e informações à cerca da qualidade nutricional de leites comercializados submetidos ao processo de pasteurização. As amostras de leite apresentaram um teor de Na e K dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira, assim como os valores de pH, acidez e densidade. Portanto, os valores encontrados de pH, acidez, densidade e de concentração de Na K não foram indicativos de fraude.

O preparo de amostra com a TRIS mostrou-se eficiente para as análises instrumentais, apresentando baixo custo e tempo reduzido de preparo, podendo ser aplicado em análises rotineiras em laboratório.

6. Referências Bibliográficas

1. SILVA, P.H.F. Leite: Aspectos de Composição e Propriedades. *Quím. Nova na Escola*, n. 6, p. 3-5, nov.1997.
2. LISBÔA, J. C. F; BOSSOLANI, M. Tipos de leite, Substâncias estranhas e obtenção de plástico. *Quím. Nova na Escola*, n. 6, p. 30-32, nov.1997.
3. LEITE, Z. T. C; VAITSMAN, D. S; DUTRA, P. B. Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade. *Quím. Nova*, v. 29, n. 4, p. 876-880, 2006.
4. OKOMURA, F; CAVALHEIRO, E. T. G. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica. *Quím. Nova*, São Carlos, v. 27, n. 5, p. 832-836, jun. 2004.
5. TRONCO, V. M. Manual de Inspeção da Qualidade do Leite. 5ª ed., Santa Maria: Editora UFSM, p. 17-37, 57-72, 2008.
6. Disponível em: <http://www.crn1.org.br/wpcontent/uploads/2015/04/taco.pdf?x53725>. Acesso em: 30 jul. 2018.
7. BEHMER, M. L. A. Tecnologia do Leite. 15ª ed., São Paulo: Nobel, p. 89, 1987.
8. MENDES, T. de O; PORTO, B. L. S; BELL, M. J. V; PERRONE, I. T; DE OLIVEIRA, M. A. L. Capillary zone electrophoresis for fatty acids with chemometrics for the determination of milk adulteration by whey addition. *Food Chemistry*, v. 213, p. 647-653, 2016.
9. CASSOLI, L. D; SARTORI, B. ZAMPAR, A; MACHADO, P. F. An assessment of Fourier Transform Infrared spectroscopy to identify adulterated raw milk in Brazil. *International Journal of Dairy Technology*, v. 64, n. 4, p. 480-485, nov. 2011.
10. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Instrução Normativa Nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite Cru Refrigerado, Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, seção 1, n.251, p.6, 30 dez. 2011.

11. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Gabinete do Ministro. Instrução Normativa Nº 17, de 9 de abril de 2018. Art. 1º Ficam aprovados os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite tipo A na forma desta Instrução Normativa e do seu Anexo.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, seção 1, n. 80, p. 17, 26 abri. 2018.

12. Disponível em: <https://www.paodeacucar.com/produto/272188/leite-longa-vida-desnatado-paulista-garrafa-1-litro>. Acesso em: 18 jul. 2018.

13. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/poa/Manualdemtodosoficiaisparaanalisedealimentosdeorigemanimal2017.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2018.

14. SANTOS, D. M; NOGUEIRA, A. R. A; NEVES, E. A; CAVALHEIRO, E. T. G; NÓBREGA, J. A. Análise química inorgânica de leite e simulação do reagente CFA-C. Eclét. Quím., São Paulo, v. 27, n. esp., 2002.

15. JENSEN, R. G., ed. Handbook of Milk Composition. New York, Academic Press, 1995.