



*Instituto Politécnico de Coimbra*  
**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**

Curso de Especialização Tecnológica em  
Qualidade Alimentar

# Análises para o controlo da qualidade ao leite

Ana Maria Costa Dias

Coimbra, Fevereiro 2010



**Instituto Politécnico de Coimbra**  
**ESCOLA SUPEIOR AGRÁRIA**

Curso de Especialização Tecnológica em  
Qualidade Alimentar

# Análises para o controlo da qualidade ao leite

**Orientador Externo:** Fausto Lameira

**Orientador Interno:** Marta Henriques

**Local do estágio:** Laboratório da escola Tecnológica e Profissional de Sico \_  
Pólo Penela

Ana Maria Costa Dias

Coimbra, Fevereiro 2010

**Dedicatória:**

Dedico este trabalho principalmente aos  
meus pais e todos os meus amigos

## **Agradecimentos:**

Gostava de agradecer:

- Ao Engenheiro Fausto Lameira;
- À Mestre Marta Henriques;
- À Instituição que me acolheu durante o estágio E.T.P Sicó-Pólo Penela;
- A todos os colegas que conheci durante este curso.

## **RESUMO**

O leite foi sempre considerado um produto de alto valor biológico. Encarado como primeiro alimento que consumimos e o qual permanecerá na nossa cadeia alimentar ao longo de toda a nossa vida.

Devido à importância que desempenha no organismo, ao longo dos anos foram-se aperfeiçoando cada vez mais as técnicas de controlo da sua qualidade e higiene. Estas por sua vez são cada vez mais exigentes.

O objectivo principal deste estágio, para além da caracterização dos vários tipos de leite (vaca, ovelha, cabra) recebidos no laboratório da ETP Sicó, foi a análise do conteúdo em proteína do leite através dos métodos de Kjeldahl e de Formol. A utilização dos dois métodos permitiu a posterior comparação dos resultados obtidos por ambos de forma a avaliar a sua eficiência relativa.

Das 56 amostras analisadas, diferenciadas por tipos de leite (vaca, ovelha e cabra) podemos referir que os dois métodos de determinação de proteína (método de Kjeldahl e de Formol) não apresentaram uma correlação muito definida entre eles. A correlação entre valores obtidos também varia consoante o tipo de leite analisado, verificando-se melhores resultados para o leite de origem bovina. De referir que será mais viável, realizar a determinação da proteína do leite através do método de Kjeldahl, pois este é o método de referência.

### **Palavras – Chaves:**

- Leite;
- Proteína;
- Método de Kjeldahl;
- Método de Formol.

## ABSTRACT

The milk was always considered a product of high biological value. Regarded as first food we consume and which will remain in our food chain throughout our lives.

Due to the importance it plays in the body over the years have been improved more and more techniques of monitoring the quality and hygiene. These in turn are increasingly demanding.

The main objective of this stage, beyond the characterization of different types of milk (cow, sheep, goat) received in the laboratory of ETP Sico, was the analysis of protein content in milk by the methods of Kjeldahl and Formaldehyde. The use of two methods led to the later comparison of results obtained by both in order to assess their relative efficiency.

Of the 56 samples analyzed by different types of milk (cow, sheep and goats), we noted that the two methods for determining protein (Kjeldahl method and Formaldehyde) did not show a very definite correlation between them. The correlation between values obtained also varies depending on the type of milk analyzed, and there are better results for the milk of bovine origin. Be noted that it will be feasible, carry out the determination of milk protein by Kjeldahl method, because this is the reference method.

### **Words - Chaves:**

- Milk;
- Protein;
- Kjeldahl method;
- Formaldehyde method.

# Análises para o controlo da qualidade ao leite

---

## **SUMÁRIO**

Introdução .....	9
1 - Apresentação da Instituição de Acolhimento .....	10
2- Leite .....	12
Leite de vaca: .....	14
Leite de cabra: .....	14
Leite de ovelha: .....	14
3 – Análises ao Leite .....	15
Análises organolépticas: .....	15
Análises Microbiológicas:.....	16
Análises Físico-Químicas: .....	17
4 – Determinação da Proteína.....	19
Método de Kjeldahl .....	21
Método de Formol:.....	25
5 – Resultados e Discussão .....	27
6 – Conclusão .....	33
Bibliografia:.....	34

## ***Sumário de Figuras***

Figura 1: Escola Tecnológica e profissional de Sicó – pólo de Penela;

Figura 2: Constituição do leite;

Figura 3: comparação da densidade de leite de vaca, cabra e ovelha;

Figura 4: comparação da gordura de leite de vaca, cabra e ovelha;

Figura 5: comparação do extracto seco de leite de vaca, cabra e ovelha;

Figura 6: comparação do índice crioscópico de leite de vaca, cabra e ovelha;

Figura 7: comparação da densidade de leite de vaca, cabra e ovelha;

Figura 8: comparação do método de Kjeldahl e de formol de leite de vaca, cabra e ovelha;

# Introdução

---

O presente trabalho foi elaborado no âmbito da Formação em Contexto de Trabalho do Curso Especialização Tecnológica em - Qualidade Alimentar ministrado na Escola Superior Agrária de Coimbra. Este estágio foi, realizado no laboratório da Escola Tecnológica e Profissional de Sicó - Pólo de Penela, e teve como principal objectivo a determinação da proteína do leite através do método de Kjeldahl e do método de Formol. A sua duração foi de 450 horas entre 12 de Maio a 12 de Outubro de 2009.

Fazem parte deste relatório a pesquisa bibliográfica relativa ao tema proposto a realização experimental dos métodos e a determinação da proteína do leite e o respectivo tratamento dos resultados.

Este trabalho encontra-se dividido em vários capítulos cada um dedicado a diferentes assuntos. Começo por fazer a caracterização da Instituição onde foi realizado o estágio. Seguidamente faço uma breve introdução ao leite e às suas proteínas mais relevantes, caracterizando os métodos para a sua determinação (método de Formol e método de Kjeldahl ou de referência). Por fim os resultados são apresentados e discutidos, de forma a averiguar a eficiência de cada método.

Durante este período para além da realização de análises de proteína ao leite aqui apresentadas neste relatório, foram também efectuadas análises a produtos alimentares tais como ao vinho e ao queijo, e ainda realizadas actividades do quotidiano do laboratório; tais como a lavagem e preparação de material, realização de inventários de materiais e reagentes, organização e arrumação de materiais e realização de fichas para registo e controlo de materiais, produtos e actividades.

# 1 - Apresentação da Instituição de Acolhimento

---

A ETP Sicó foi criada a 3 de Julho de 1991 por contrato - Programa entre o Ministério da Educação e as Câmaras Municipais de Penela, Ansião e Alvaiázere.

Iniciou a sua actividade no mesmo ano, lectivo (1991/1992)

Em Junho de 1999, as Câmaras Municipais acima mencionadas constituíram a Sicó Formação - Sociedade de Ensino Profissional S.A, que actualmente é a entidade propriedade de ETP Sicó.

Após a acreditação enquanto entidade formadora pela DGERT- Direcção Geral do Emprego e das Relações de Trabalho a ETP Sicó passou a intervir no mercado de formação profissional oferecendo cursos profissionais de nível III de acordo com as necessidades do tecido sócio - económico do meio envolvente.

O primeiro curso ministrado no pólo de Penela foi o curso de Indústrias Alimentares/ Lacticínios. A sua forte componente prática e laboratorial exigiu criação de um laboratório que pudesse assegurar estas valências evitando deslocações a instalações externas.

Atendendo à localização privilegiada do Penela na região demarcada de produção do queijo Rabaçal e a existência de algumas indústrias de lacticínios na região (queijarias), seria de todo oportuno a prestação de serviços, nomeadamente na realização de análises físico-químicas ao leite e queijo.

Desta forma também se rentabilizaria o investimento feito na criação do laboratório. Entretanto deixou de funcionar o curso de Indústrias Alimentares/ Lacticínios sendo substituído pelo curso de Química tecnológica / Analista de Laboratório.

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

---

O laboratório foi adaptado às exigências do novo curso de modo a poder assegurar a sua componente prática, desta vez na área da química analítica, no entanto manteve-se a vertente de prestação de serviços industriais.

Em 1994 alargou-se a vertente da prestação de serviços à área de vinhos tendo sido estabelecido um protocolo com a VINISICÓ para a realização de análises aos vinhos dos produzidos na região.

Desde 2004 com a mudança do pólo de Penela da ETP Sicó para novas e definitivas instalações com excelente qualidade (figura 1), procedeu-se á acreditação do laboratório para alguns ensaios realizados.

Actualmente está a ser dotado de meios que permitem a realização de ensaios de controlo de água de consumo humano e residuais de acordo com o decreto de lei nº 306/2007 de 27 de Agosto com vista à acreditação que ocorrerá durante o próximo ano 2010.



Figura1: Escola Tecnológica e profissional de Sicó – pólo de Penela

### 2 - Leite

---

Tecnicamente leite é “ um produto integral da secreção pelas fêmeas dos mamíferos depois do parto ou período de colostragem” [1].

O leite resulta da actividade das glândulas mamárias as quais entram em funcionamento com o parto. Um pouco antes deste, aparece, porém uma secreção que a fêmea mantém ainda, depois do nascimento do filho, durante 6 a 8 dias denominado por – colostro, que se apresenta como um líquido viscoso, de cor acastanhada e cheiro característico que é indispensável à saúde da cria nos primeiros dias de vida, dando lugar, após aquele período, ao leite normal.

O consumo do leite deverá ocorrer durante todas as idades, para poder complementar as refeições deficientes em certas substâncias. Por sua vez estas substâncias que fazem parte da composição do leite, são indispensáveis ao bom funcionamento do organismo.

No entanto como se trata de um produto facilmente perecível, e que se altera com extrema facilidade, é indispensável protegê-lo de contaminações, as quais poderão colocar em risco o seu elevado valor nutritivo. Os constituintes principais do leite são a água, a lactose, a gordura, as substâncias proteicas e os sais minerais nomeadamente cálcio e fósforo (figura 2). Temos também presentes os compostos chamados oligoelementos, ou existentes em quantidades muito pequenas dos quais se destacam-se as vitaminas, outros lípidos (lecitina), enzimas, hormonas e gases.

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

A caseína, proteína maioritária no leite, é de alta qualidade e particularmente adequada ao organismo para a elaboração e reparo de tecidos musculares sendo o seu coeficiente de digestibilidade de 98%.

A lactose, não é tão doce quanto o açúcar de cana, não fermenta rapidamente e por isso provoca alterações digestivas como acontece com outros tipos de açúcares, sendo a sua digestibilidade ligeiramente inferior (97%).

A gordura presente no leite quando comparada com outras gorduras é uma fonte rica de energia servindo de meio de transporte para as vitaminas lipossolúveis: A, D, E e K. Esta encontra-se sob a forma de emulsão.

Os sais minerais encontrados no leite, especialmente o cálcio e o fósforo são essenciais para a estrutura dos ossos e dentes de indivíduos de todas as idades, sobretudo para lactantes e crianças.

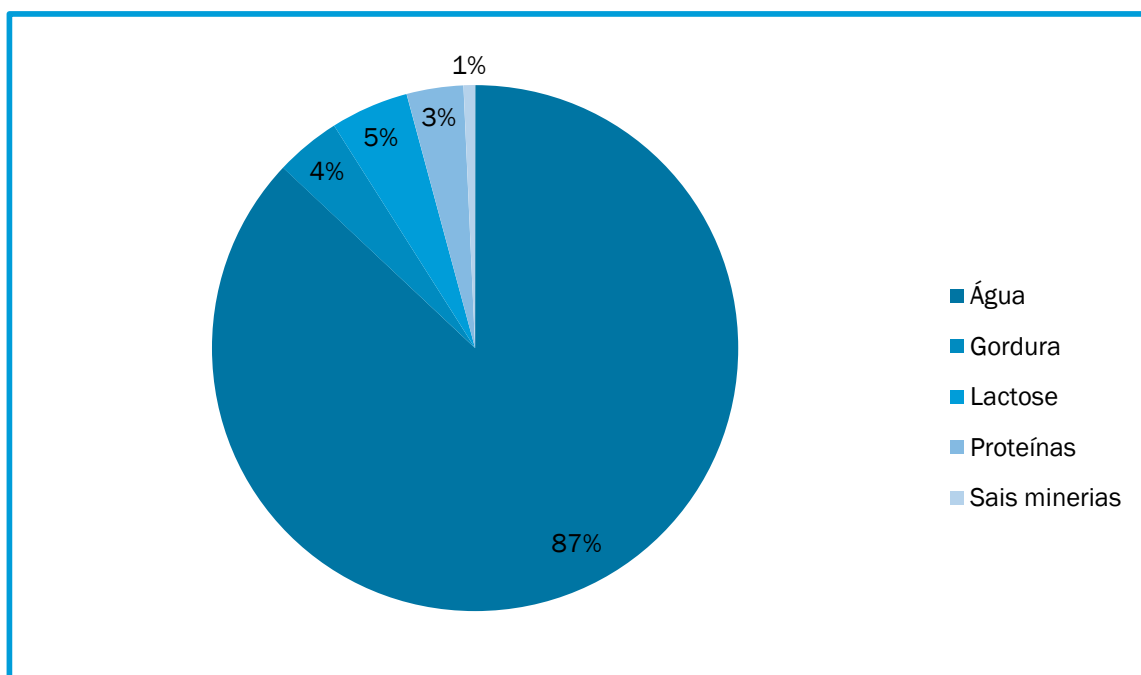


Figura 2: Constituição do leite.

### ***Leite de vaca:***

O leite de vaca serve para consumo directo bem como para industrialização pois a manteiga e queijo que dele se fabricam possuem óptimas características olfactivas e gustativas. Na realidade, este leite é o que contém uma composição mais equilibrada, para além que provem da espécie que o produz em maior quantidade [1].

### ***Leite de cabra:***

É um leite muito branco e com maior viscosidade que o de vaca. É consumido directamente e também usado para o fabrico de queijo. Como os seus glóbulos de gordura são muito pequenos, é difícil a formação da nata. Trata-se de um leite muito sensível à acção do coalho, exala um cheiro muito perceptível (cheiro a cabrito) razão, pela qual, é frequente a mistura com leite de ovelha no fabrico de alguns queijos [1].

### ***Leite de ovelha:***

Possui coloração branca e cheiro e sabor pouco agradáveis. O leite de ovelha é muito viscoso, características que tornam difícil ou pelo menos muito lenta a ascensão da gordura. A fermentação láctica ocorre com maior dificuldade e a acção do coalho é menos sensível. Pela riqueza em albumina este leite é utilizado principalmente no fabrico de queijo e requeijão [1].

### 3 – Análises ao Leite

---

#### ***Análises organolépticas:***

A avaliação organoléptica pode definir-se através da cor, sabor, cheiro e aspecto geral. Estas características são elementos de apreciação susceptíveis de denunciar, isoladamente ou em conjunto, a qualidade higiénica do leite e as suas alterações.

Por esta razão em todos os locais de recepção do leite é indispensável a presença de um funcionário que deve cheirar rapidamente as bilhas de leite e observar o seu aspecto. A análise do leite, feita por indivíduos com experiência é muito valiosa, pois, os seus sentidos estão treinados de forma a raramente se enganarem. Sempre que o leite é rejeitado nesta primeira fase será em seguida objecto de um exame mais minucioso, a fim de se obter a contraprova, que definitivamente indicará o destino final a dar ao leite rejeitado. Com o progresso verificado nas condições de higiene de produção e refrigeração imediata do leite, este exame torna-se muitas vezes já obsoleto.

A cor que o leite deverá apresentar será branca ou ligeiramente amarelada, sendo o tom mais ou menos amarelo proveniente da gordura e também da riqueza butirosa do leite. Quando apresenta uma tonalidade rósea, azulada e outras deverá ser imediatamente rejeitado, porque essas tonalidades denunciam alterações graves do úbere dos animais nomeadamente infecções.

O cheiro do leite limpo é quase imperceptível mas um bom olfacto consegue detectá-lo. O leite ácido, sujo e retardado tem um cheiro forte, desagradável por vezes azedo e em alguns outros casos, pútrido.

## **Análises para o controlo da qualidade ao leite**

---

Para além da análise de cor é bastante importante o exame ao aspecto geral. Assim e em primeiro lugar, temos o exame da superfície livre do leite, que sendo limpo e de boa proveniência não apresenta impurezas à superfície.

Outro parâmetro que se pode avaliar com o exame do aspecto geral ao leite é a sua viscosidade. O leite normal à temperatura ambiente é um líquido mais ou menos viscoso, que quando esvaziado de um copo de vidro deixa ver uma película que fica aderente às suas paredes durante algum tempo.

### **Análises Microbiológicas:**

Quando as amostras de leite dão entrada num laboratório, procede-se à realização das análises para avaliação da qualidade do leite. As primeiras análises a realizar devem ser as microbiológicas, para certificar que a amostra não é contaminada com microrganismos externos à amostra.

As análises microbiológicas que se realizam no laboratório foram a determinação do:

**Teor de mesofilos totais** – Através desta análise pode saber-se se o leite se encontra contaminado com colónias bacterianas. Nesta análise devemos proceder a uma diluição da amostra, e de seguida transferir o volume exacto para uma caixa de Petri, adicionando-se o meio de cultura.

Depois do meio de cultura (PCA) ter solidificado devemos coloca-lo numa estufa de incubação para o desenvolvimento microbiano. Caso haja crescimento de colónias pode-se ficar a saber se o leite se encontra contaminado.

### **Análises Físico-Químicas:**

Após a realização das análises microbiológicas, procede-se à realização das análises Físico-Químicas. Destacam-se como análises mais frequentes a determinação, tendo cada um procedimento específico na sua realização (anexo):

**Densidade** – É uma das provas mais vulgares na prática de inspecções de leite, e de uma grande importância pela informação útil e rápida que pode prestar. Não sendo uma prova inteiramente decisiva, tem vantagem de levantar suspeitas que na maioria dos casos, confirmam a fraude.

Pela determinação de densidade é possível suspeitar se o leite foi desnatado ou aguado. Por outro lado, o valor da densidade combinado com a determinação da percentagem de gordura permite determinar o valor do extracto seco total.

A densidade foi determinada com o auxílio de um termolactodensímetro que é colocado num recipiente que já contém a quantidade de amostra a analisar.

**Gordura** – Pode ser determinada pelo método de Gerber. O princípio do método baseia-se no ataque selectivo às proteínas por acção do ácido sulfúrico, com extracção da gordura, que será separada por centrifugação, auxiliada por álcool iso-amílico, responsável pela modificação da tensão superficial. A gordura do leite que tem um valor médio de 3,9%, está directamente ligada às diversas características físicas - químicas e sensoriais.

**Índice crioscópico** - A crioscopia do leite corresponde à medição do ponto de congelação ou da pressão do ponto de congelação do leite em relação à água. A composição do leite gera um valor aproximado de  $-0,531^{\circ}\text{C}$  para o ponto crioscópico. Este parâmetro depende de uma série de factores relacionados com o animal, tipo de leite, ambiente, processamento e às técnicas de crioscopia. Uma das principais fraudes do leite é a adição de água e também uma das mais graves, pois não só diminui o valor nutritivo do produto, mas também pode ser fonte de contaminação por perigosos germes patogénicos. Através da crioscopia é possível saber se houve fraude pela adição de água.

**Extracto seco total e isento de gordura** – O processo rigoroso de determinação de extracto seco implica um trabalho laboratorial fácil mas, demorado. Geralmente pode obter-se o extracto seco por forma indirecta, ou seja, o chamado resíduo (ou extracto) seco calculado.

Para este procedimento é apenas necessário o conhecimento dos valores de densidade e gordura aplicados à equação (1):

$$R = 266,66 \frac{d_{20}^{20} - 1}{d_{20}^{20}} + 1,258 \text{ G} \quad (1)$$

**Onde:**

**R** - Resíduo Seco total;

**G** -% de matéria gorda;

**d**<sup>20</sup><sub>20</sub> - densidade relativa a 20°C

# 4 – Determinação da Proteína

---

As proteínas são os compostos mais representativos da chamada fracção azotada do leite. Esta fracção é constituída por dois grupos dos quais o principal é o das proteínas, como já tínhamos mencionado, sendo o outro formado por matérias não azotadas proteicas. [2]

As proteínas do leite são constituídas pelas proteínas insolúveis ou caseína com uma concentração de aproximadamente, 27\_g/L, e que se apresentam sob a forma de micelas proteolíticas e pelas proteínas solúveis que se encontram no lactossoro e se dividem em albuminas, globulinas e enzimas.

As proteínas insolúveis ou as caseínas diferenciam-se entre si pelos seus pesos moleculares, o que permite a sua separação por ultra centrifugação.

As proteínas solúveis englobam as imunoglobulinas e lactotransferinas em quantidades muito moderadas mas que começam actualmente a ter valor no âmbito tecnológico.

Os compostos azotadas não proteicas (ANP) constituem um conjunto de substâncias sem efeito tecnológico e cujo teor em azoto não deve ser tomado em conta para a determinação do teor proteico no leite.

A principal diferença que existe entre a fracção das caseínas e as proteínas solúveis é que as primeiras coagulam pela acção do coalho animal ou outra enzima coagulante e não pelo calor, enquanto as segundas coagulam pelo calor e não pela acção das enzimas coagulantes. A coagulação das enzimas solúveis no leite pelo calor, quando se encontram em equilíbrio estável no leite, é só parcial e começa a processar-se a temperaturas próximas dos 60°C.

Fisiologicamente as proteínas são substâncias indispensáveis à construção dos tecidos, por isso, ocupam um lugar importantíssimo na nutrição dos animais e do homem.

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

---

Sendo o leite o alimento exclusivo da primeira idade, as proteínas lácteas, as mais completas e as que possuem todos os elementos indispensáveis à primeira fase da vida em todos os mamíferos.

Existem vários processos para a determinação da proteína no leite, dos quais se destacam:

- Método de referência – método de Kjeldahl;
- Método de Formol – titulação;
- Método semi automático – negro de amido “pro Milk”;
- Método automático – por infravermelhos “Milk- scan”.

### ***Método de Kjeldahl***

O nome do método de Kjeldahl deve-se ao seu criador o químico dinamarquês Jonhan Gustav Kjeldahl. É indicado para determinar o azoto contido numa amostra orgânica.

No leite, este método determina o azoto orgânico total, isto é, o azoto proteico orgânico. Na maioria dos alimentos, o azoto não proteico representa muito pouco no total. A razão entre o azoto medido e a proteína estimada depende do tipo de amostra entre outros factores. Para relacionar o conteúdo em azoto medido com a concentração em proteína devemos multiplicar o conteúdo de azoto por um factor específico para o tipo de proteínas existentes no alimento arbitrário, que representa um factor médio para o material em estudo, que é de 6,38 no caso leite.

O procedimento do método baseia-se no aquecimento da amostra com ácido sulfúrico para a digestão até que o carbono e hidrogénio sejam oxidados e o azoto da proteína seja reduzido e transformado em sulfato de amónio. Após a digestão adiciona-se NaOH concentrado e aquece-se para a libertação de amónia, que é destilada para um recipiente onde já se encontra um volume conhecido de uma solução de ácido bórico, formando-se borato de amónia. O borato de amónia formado é doseado com uma solução de ácido HCl padronizada (0,1N).

O método de Kjeldahl é considerado método referência confiável, reconhecido em todo o mundo e que, utiliza aparelhos e reagentes comuns em todos os laboratórios de análises químicas.

Surgiu na metade do século passado, e a partir dessa época é utilizado quase que mundialmente, com maiores ou menores modificações, principalmente na utilização do catalisador. Mas basicamente, mantiveram-se os princípios e fundamentos enumerados por Kjeldahl. Também sofrem modificações (ou adaptações) os aparelhos de destilação, sendo que estas nunca chegaram a ser muito profundas

## **Análises para o controlo da qualidade ao leite**

---

Neste trabalho usou-se um equipamento semi-automático da marca J. P. Selecta constituído por um bloco digestor de seis elementos e um destilador automático, modelo PRONITRO I.

### ***Determinação da proteína do leite pelo método de Kjeldahl***

#### ***Reagentes***

- **Solução de NaOH (47%) (m/m);**
  - Pesar 604g de NaOH;
  - Diluir em 1000mL de água.
  
- **Catalisador Kjeldahl (comprimido)** (sendo da marca J. P. Selecta com composição de 6,25% de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em sulfato de potássio);
  
- **Ácido Sulfúrico (96%) (m/m);**
  
- **Ácido bórico;**
  - Pesar 40g e diluir em 1000mL de água;
  - Adicionou-se 10mL de indicador.
  
- **Ácido clorídrico (0,1N);**
  
- **Indicador misto;**
  - Dissolver 100mL de etanol, 80mg de vermelho de metilo e 20mg de azul-de-metileno.

#### ***Preparação da amostra***

Se a amostra for líquida homogeneíza-se suavemente com agitação;

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

---

### **Procedimento**

- Pesou-se para um tubo de digestão um grama de amostra (leite) homogeneizou-se e adicionou-se um comprimido catalisador;
- Adicionou-se 20mL de ácido sulfúrico e algumas esferas de vidro, como reguladores de ebulição;
- Colocaram-se os tubos de digestão com o extractor de fumos ligado;
- Realizou-se a digestão a uma temperatura entre 350 a 420°C durante 2 h;
- No final da digestão o líquido obtido deve ser límpido de cor verde azulada;
- Deixaram-se arrefecer os tubos com a amostra à temperatura ambiente ou submergidos em água;
- Com precaução adicionaram-se 50mL de água destilada a cada tubo com amostra e deixou-se arrefecer novamente;
- Verificaram-se os níveis de água e hidróxido de sódio dos depósitos da unidade destiladora;
- Mediram-se 50mL de ácido bórico para um balão de Erlenemeyer, e colocou-se no suporte de recolha dos destilados com o tubo de saída submerso;
- Quando se atingiram os 150mL de destilados, deu-se por concluída a destilação;
- Titulou-se o destilado com a solução de ácido clorídrico de 0,1N;

→ Registou-se o volume gasto.

### **Cálculos**

O teor de azoto total foi calculado aplicando a equação (2):

$$\% \text{ azoto} = \frac{1,4 * N (V1 - V0)}{m} \quad (2)$$

Sendo:

**N** = Normalidade da solução de NaCl;

**V1**= Volume do titulante gasto na amostra (mL);

**V0**= volume de titulante gasto no ensaio em branco (mL);

**m** = massa da amostra em (g);

A percentagem de proteína calculou-se de acordo com a equação (3):

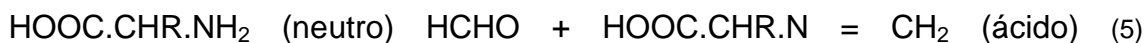
$$\% \text{ proteína} = \% \text{ de azoto} * 6,38 \quad (3)$$

### ***Método do Formol***

Um dos métodos alternativos para a realização do ensaio da proteína é o método do Formol que é mais rápido e mais prático, embora menos rigoroso e não é considerado um método de referência.

Deste modo muitos laboratórios optaram por realizar a determinação da proteína através deste método pelas razões enumeradas anteriormente.

As proteínas são compostos frágeis para serem titulados directamente com compostos alcalinos, quando o formol é adicionado (4), reage com os grupos amina ( $\text{NH}_2$ ) para formar o metileno-amino ( $-\text{N} = \text{CH}_2$ ) e o grupo carboxilo fica então disponível para a titulação (5).



Além disso, as proteínas (que têm carácter ácido) no leite reagem com o NaOH fazendo um maior volume utilizado na titulação, o que pode proporcionar um valor mais elevado do teor de proteínas consequentemente um resultado com um erro associado superior .

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

---

### **Procedimento**

- Mediram-se 10mL de leite para um tubo de ensaio;
- Adicionou-se 0,5mL de fenolftaleína (0,5%) e 0,4mL de solução neutra de oxalato de potássio;
- Neutralizou-se com a solução NaOH (0,1N) até ligeira viragem para rosa;
- Adicionaram-se 2mL de formol e esperou-se 2 min;
- Titulou-se novamente com NaOH 0,1 N até obter o tom rosa inicial e registou-se o volume gasto (A);
- Fez -se um ensaio em branco titulando-se 2mL de formol com 10mL de água destilada e registou-se o volume gasto (B).

### **Cálculos**

A determinação do teor em proteína foi efectuada de acordo com a equação (6).

$$\%proteína = 1,7 * (A - B)$$

(6)

# 5 – Resultados e Discussão

Como já referido, anteriormente quando chegam amostras deverão ser feitas as análises necessárias para verificar a qualidade do leite.

Os seguintes gráficos resumem as médias encontradas dos parâmetros avaliados (anexo). A variabilidade associada às médias referidas, aqui representadas pelo desvio padrão é importante pois podem ter implicações na interpretação dos resultados obtidos.

Como podemos verificar pela análise do gráfico da figura 3, os valores de densidade são superiores no leite de ovelha, devendo-se ao facto de ser um leite muito viscoso com um rico conteúdo proteico e de gordura comparativamente ao leite de vaca e cabra. Em termos de valor essa diferença não é muito grande uma vez que falamos em alterações na ordem das centésimas, no entanto é suficiente para os distinguir por este parâmetro. O leite de vaca e cabra apresentam valores semelhantes na densidade.

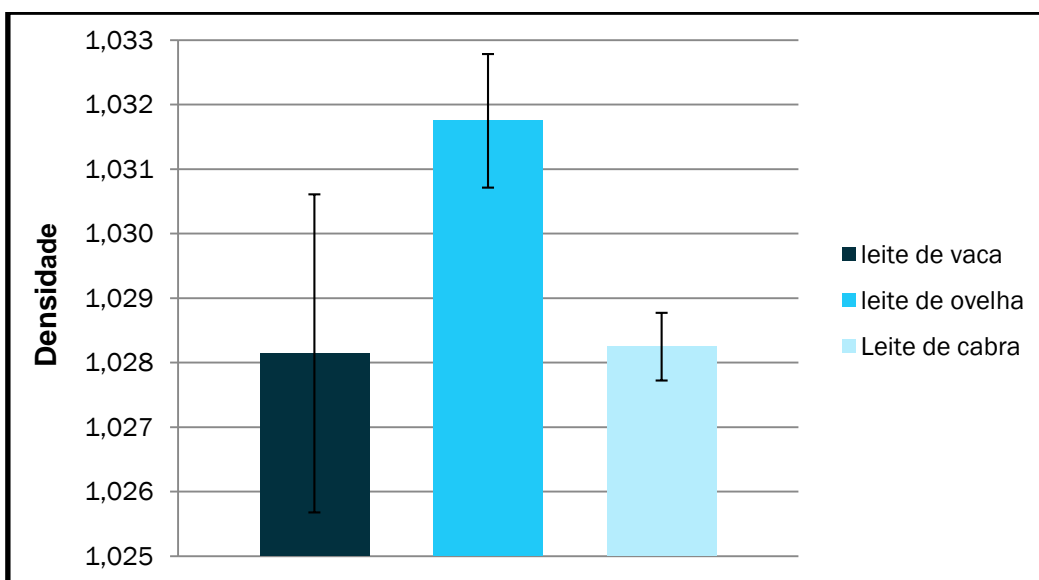


Fig3: Comparação da densidade de leite de vaca, ovelha e cabra

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

De acordo com os valores obtidos no parâmetro da gordura (figura 4), podemos afirmar que mais uma vez os valores obtidos no leite de ovelha são mais elevados. Estes resultados já se esperavam uma vez que o leite de ovelha era o que possuía uma maior densidade o que estava a ser influenciado pelo seu conteúdo de gordura. Já o leite de vaca e cabra tem uma reduzida percentagem de gordura e por isso pouco viscosos.

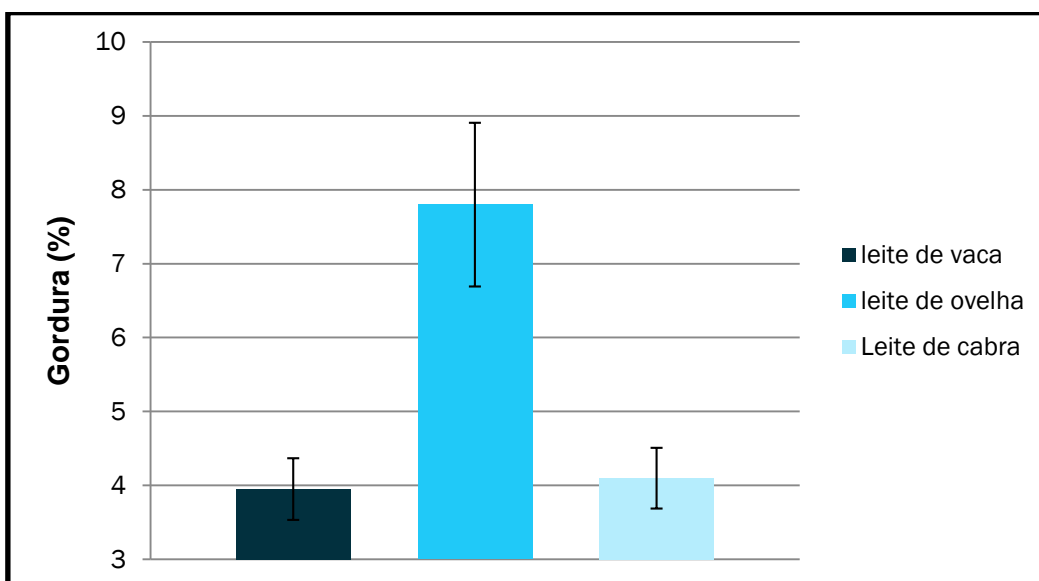


Fig4: Comparação da gordura de leite de vaca, ovelha e cabra

A determinação rigorosa do extracto seco irá implicar um trabalho laboratorial, não difícil mas demorado, deste modo optou-se por determinar este parâmetros através de cálculos indirectos, sendo apenas necessário o conhecimento dos valores da densidade e gordura.

Como se verificou anteriormente os valores do extracto seco (figura 5) obtidos para o leite de ovelha foram sempre os mais elevados, tanto na densidade como na gordura, sendo de esperar que o valor do extracto seco seguiria a mesma tendência relativamente ao leite de vaca e de cabra.

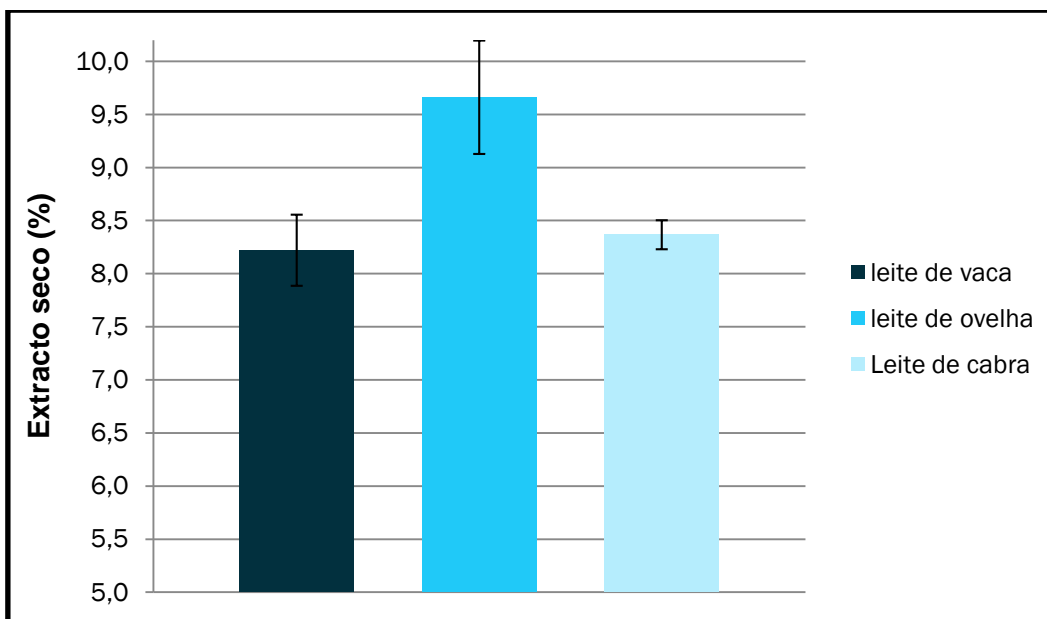


Fig5: Comparação do extracto seco de leite de vaca, ovelha e cabra

De salienta, que de uma forma prática referimo-nos aos valores do índice crioscópico com um valor positivo no entanto esse valores correspondem à temperatura de congelação, ou seja, valores negativo (exemplo: - 0,520).

Sendo que os valores relativos ao leite de ovelha são os que têm um menos índice crioscópico, relativamente ao leite de vaca e cabra, este valor reduzido no leite de ovelha deve-se á grande quantidade de sólidos que este leite contém fazendo aumentar o extracto seco e diminuído o índice crioscópico.

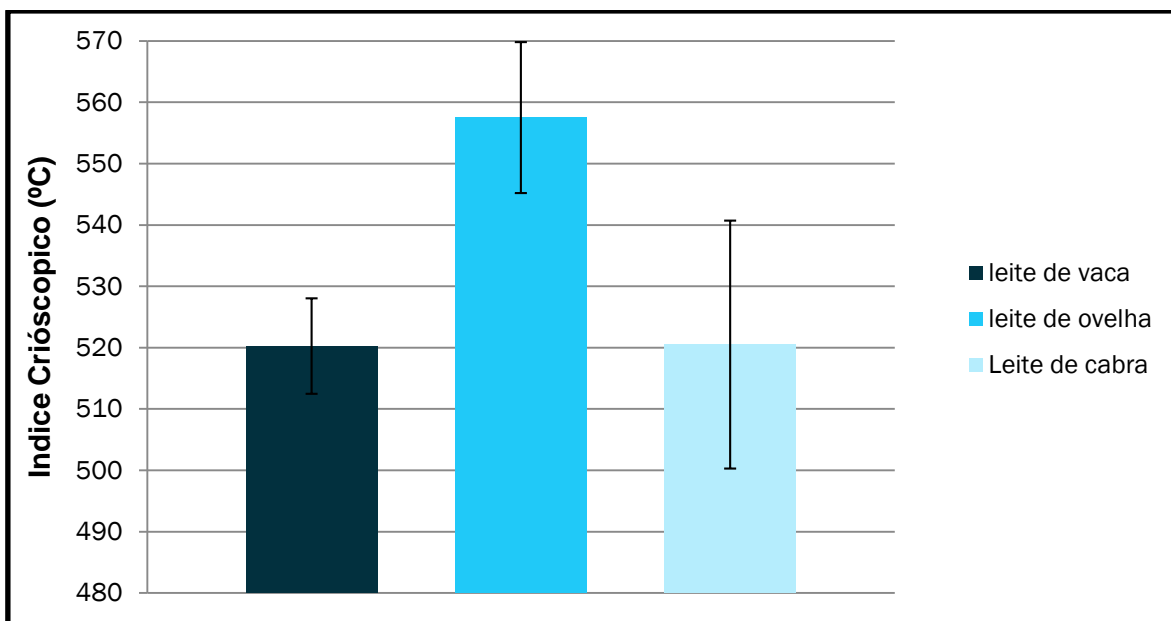


Fig6: Comparação da índice crioscópico do leite de vaca, ovelha e cabra

De acordo com o (figura 7) podemos verificar que o leite de ovelha é o que contém uma percentagem de proteína mais elevada sendo que este facto ocorre devido a grande quantidade de gordura que este leite contém e sendo este rico em albumina. Já referente ao leite de vaca e cabra têm um menor teor de proteína comparativamente ao leite de ovelha.

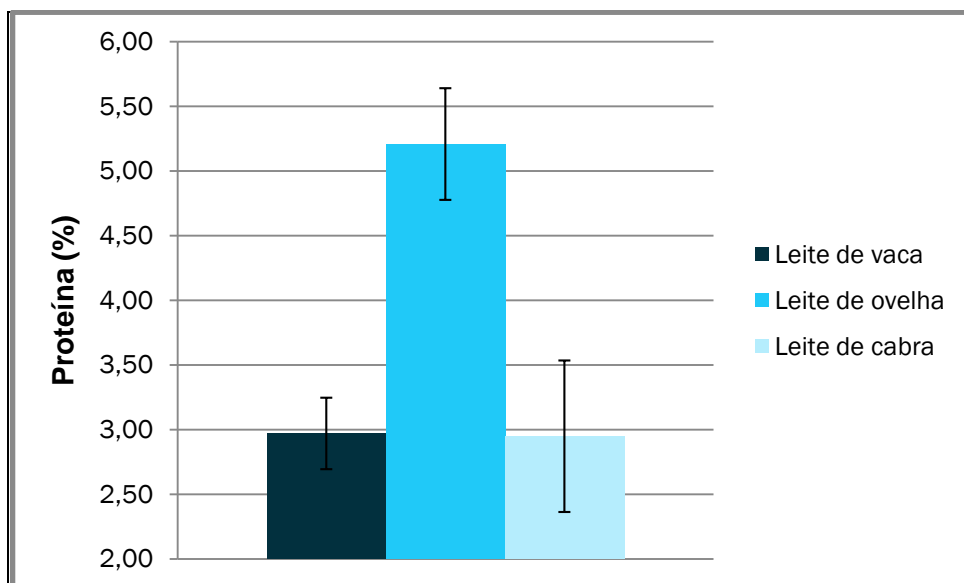


Fig7: Comparação da proteína do leite de vaca, ovelha e cabra

Ao observarmos o gráfico (8) verificamos que os teores de proteínas nas amostras de leite de vaca encontram-se numa gama de valores menos dispersos, não havendo grande distinção entre os dois métodos usados.

Existem casos em que o valor obtido por ambos os métodos é semelhante.

Convém salientar que o número de amostras analisadas é também bastante superior para o caso do leite de vaca, o que pode melhorar a visualização mais concentrada dos resultados.

Relativamente ao leite de ovelha os valores obtidos têm uma ordem de grandeza maior, como aliás já era de esperar uma vez que é indicado como um leite mais rico em proteínas. Apresentam também uma discrepância maior nos valores obtidos por ambos os métodos.

No caso do leite de cabra o número de amostras é reduzido e para além disso verifica-se que os valores obtidos por ambos os métodos são também discrepantes, no entanto com uma tendência para serem superiores no caso do método de Formol. De forma a avaliar o conteúdo em proteína deste tipo de leite seria conveniente a análise de mais amostras

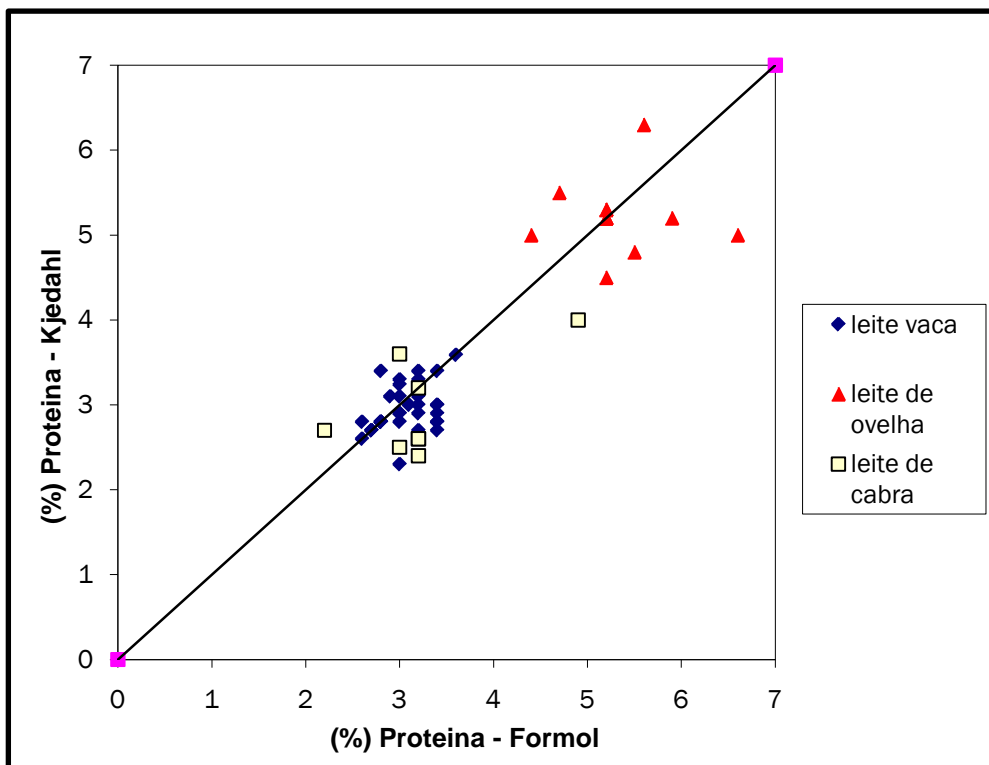


Fig8: Comparação do método de Kjeldahl e de formol do leite de vaca, ovelha e cabra

# 6 – Conclusões

---

Relativamente as análises gerais realizadas ao leite, podemos considerar que os valores obtidos estão de acordo com os requisitos necessários para que um leite seja considerado de boa qualidade e que nele não exista qualquer tipo de fraude.

Na análise á comparação dos métodos (Formol e Kjeldahl), não podemos referir que exista correlação entre estes métodos, uma vez que os valores obtidos nos dois métodos em muitas das amostras diferem bastantes.

Estas diferenças podem dever-se vários erros laboratoriais, nomeadamente, não ter ocorrido a realização de duplicados das amostras, tomando como valor correcto o valor obtido apenas em um ensaio realizado. De um modo geral podem ainda ter ocorrido alguns erros experimentais por parte do técnico de laboratório.

Das comparações entre os dois métodos, de salientar que será mais viável determinar a proteína do leite através do método de Kjeldahl, sendo este considerado o método de referência para a determinação da proteína do leite.

### Bibliografia:

- **Pineda, José Maria**, Industrias lácteas, 5ªed Lisboa, biblioteca técnica Litexa 1980;(1)
- **Castro e Costa, J.**, 1983 Noções práticas de leite e lacticínios, 3ªed Lisboa, Junta nacional dos produtos pecuários (2) ;
- **Cimiano, PC.** 1987. Metodos de análises de la leche y productos lacteos, 2ªed Madrid, Industrias Lacteas Espanola;
- **Beltran, Maria De Los Angeles, Cadahia, Maria Cristina, Gonzalez, Jesus Moreno**, Nuevos Métodos Tecnológicos para productos Lácteos, 1ªed Consellería de Agricultura Gandería e montes, 1990;
- **20 de Outubro de 2009** – faculdade de são Paulo -[www.fcf.usp.br](http://www.fcf.usp.br);
- **20 de Outubro de 2009** – scientific electronic librar - [www.scielo.br](http://www.scielo.br);
- **20 de Outubro** - Universidade Tecnológica federal Paraná [www.pg.cefetpr.br](http://www.pg.cefetpr.br).
- **15 de Novembro de 2009** - Ramos, Miguel da Silva, efeitos de refrigeração em leite de ovelha, lisboa2009, [www.repository.utl.pt/biststream](http://www.repository.utl.pt/biststream)

# ANEXOS

### ***Determinação do Índice Crioscópico***

- Calibra o aparelho electrónico com os dois padrões (- 0,408°C e - 0,600°C);
- Colocou-se o leite, num tubo de crioscópia;
- Introduzir o tubo com a amostra no aparelho de leitura do índice crioscópico;
- Esperar que o aparelho realize a leitura.

### ***Determinação da gordura do leite pelo método de Gerber***

#### **Material**

- Butirómetro Gerber com escala 8%;
- Mandril;
- Rolha fibú;
- Pipeta Gerber;
- Centrífuga Gerber:

#### **Procedimento:**

- Deitou-se num butirómetro 10mL de ácido sulfúrico a 91% (m/m);
- Deitou-se pelo bordo do butirómetro 11mL de leite, lentamente, de modo a formar uma fase sobre o ácido sulfúrico, sem se misturarem;
- Adicionou-se 1mL de álcool isoamílico.

## **Análises para o controlo da qualidade ao leite**

---

- Tapar o butirómetro com a rolha fibú e com muito cuidado agitar para misturar os diversos componentes.
  
- Centrifugar durante 7 min a cerca de 1000 rotações.
  
- Se a centrífuga não possuir sistema de aquecimento, colocar o butirómetro num banho a 60°C.
  
- Após a centrifugação ler o valor da gordura na haste do butirómetro.

### ***Determinação da densidade***

#### **Material**

- Proveta
- Termolactodensímetro

#### **Procedimento**

- Agitou-se com cuidado a amostra homogeneizando-a;
  
- Deitou-se o leite na proveta;
  
- Introduziu-se o lactodenssímetro e largou-se através de um ligeiro movimento de rotação;
  
- Após estabilização, faz-se a leitura olhando a escala ao nível da superfície do leite;
  
- Registrar a temperatura a que se fez a leitura.

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

---

### Ajuste da Densidade a 20°C

Caso o valor da densidade seja determinado a uma temperatura diferente de 20°C, para determinar a densidade à temperatura de 20°C usa-se a seguinte fórmula:

$$d_{20^{\circ}\text{C}} = d_{(\text{valor determinado})} + 0,0001K$$

Os valores de K são dados em função da matéria gorda pelo seguinte quadro:

Temp (°C) / Mat. gorda	17	17,5	18	18,5	19	19,5	20	20,5	21	21,5	22	22,5	23
2,0	-7	-6	-5	-4	-2	-1	0	+1	+2	+4	+5	+6	+8
4,0	-7	-6	-5	-4	-3	-1	0	+1	+3	+4	+5	+7	+8
6,0	-8	-7	-5	-4	-3	-1	0	+1	+3	+4	+6	+7	+8
8,0	-9	-7	-6	-4	-3	-1	0	+2	+3	+5	+6	+7	+9

Calcular os valores intermédios por interpolação.

### ***Determinação do resíduo Seco e resíduo Seco Isento de Matéria gorda***

→ A partir dos valores da densidade a 20°C e da gordura calcula-se o extracto seco pela seguinte fórmula:

(não consigo copiar a fórmula, vai ver aos apontamentos das aulas)

$$R = 266,66 \frac{d_{20}^{20} - 1}{d_{20}^{20}} + 1,258 \text{ G}$$

Sendo:

R – Resíduo Seco total

G - % de matéria Gorda

$d_{20}^{20}$  – Densidade relativa a 20°C

- O Resíduo Seco Isento de Matéria Gorda é dado por R-G.

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

### Valores dos parâmetros analisados

#### Densidade

	Vaca	Ovelha	Cabra
1	1,0290	1,03	1,028
2	1,0285	1,0315	1,0285
3	1,0285	1,0315	1,0285
4	1,0290	1,0335	1,028
5	1,0290	1,032	1,029
6	1,0180	1,0325	1,0275
7	1,0285	1,031	
8	1,0270	1,032	
9	1,0280		
10	1,0275		
11	1,0280		
12	1,0300		
13	1,0275		
14	1,0300		
15	1,0295		
16	1,0280		
17	1,0260		
18	1,0275		
19	1,0320		
20	1,0290		
21	1,0295		
22	1,0290		
23	1,0280		
24	1,0285		
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
Média	1,028146	1,03175	1,02825
Dpadrão	0,002465	0,001035	0,000524

#### Gordura (%)

	Vaca	Ovelha	Cabra
1	4,2	6,0	3,9
2	3,7	9,6	4,0
3	4,1	7,6	4,0
4	3,9	8,4	3,4
5	3,9	9,5	4,2
6	4,1	6,8	4,0
7	3,7	7,4	4,6
8	3,9	6,4	4,7
9	3,8	8,3	
10	3,7	7,8	
11	4,0	7,5	
12	3,4	8,3	
13	5,0		
14	3,8		
15	4,0		
16	3,8		
17	4,5		
18	3,9		
19	4,0		
20	4,6		
21	4,0		
22	3,8		
23	4,2		
24	4,5		
25	3,8		
26	4,0		
27	3,3		
28	4,1		
29	5,1		
30	3,4		
31	4,0		
32	3,9		
33	4,1		
34	3,4		
35	3,5		
36	3,2		
Média	3,95	7,80	4,10
Dpadrão	0,42	1,11	0,41

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

### Extracto seco

	Vaca	Ovelha	Cabra
1	8,5	8,6	8,2
2	8,3	9,6	8,4
3	8,3	10,2	8,2
4	8,5	9,8	8,4
5	8,0	10,1	8,5
6	8,2	9,8	8,5
7	7,8	9,5	
8	8,5		
9	8,2		
10	8,1		
11	8,2		
12	8,6		
13	8,1		
14	8,3		
15	8,2		
16	8,2		
17	7,7		
18	7,8		
19	8,7		
20	8,5		
21	9,0		
22	7,8		
23	7,6		
24	8,2		
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
Média	8,22	9,66	8,37
Dpadrão	0,33	0,53	0,14

### Índice de crioscópico

	Vaca	Ovelha	Cabra
1	516,0	566,0	566,0
2	516,0	548,0	503,0
3	523,0	556,0	515,0
4	526,0	550,0	524,0
5	526,0	569,0	515,0
6	523,0	563,0	512,0
7	520,0	578,0	526,0
8	520,0	542,0	503,0
9	516,0	569,0	
10	520,0	553,0	
11	512,0	560,0	
12	516,0	536,0	
13	524,0		
14	520,0		
15	515,0		
16	516,0		
17	521,0		
18	510,0		
19	529,0		
20	530,0		
21	515,0		
22	515,0		
23	512,0		
24	530,0		
25	503,0		
26	513,0		
27	528,0		
28	523,0		
29	547,0		
30	520,0		
31	521,0		
32	524,0		
33	529,0		
34	514,0		
35	516,0		
36			
Média	520,26	557,50	520,50
Dpadrão	7,78	12,30	20,21

## Análises para o controlo da qualidade ao leite

### Proteína

	Vaca		Ovelha		Cabra	
	Formol	Kjedahl	Formol	Kjedahl	Formol	Kjedahl
	0	0				
	7	7				
1	3,6	3,59	4,7	5,5	3,2	3,2
2	3	3,24	5,9	5,2	3	3,6
3	2,7	2,7	5,2	5,2	3	2,5
4	2,7	2,7	5,2	5,3	3,2	2,4
5	3,4	2,9	5,2	5,2	3,2	2,6
6	3,4	2,8	5,2	5,2	2,2	2,7
7	2,6	2,6	5,2	5,3	3,2	2,6
8	2,6	2,8	4,4	5	4,9	4
9	3,1	3	5,6	6,3		
10	3,2	3,1	5,2	4,5		
11	3,2	3,2	5,5	4,8		
12	3,2	3,4	6,6	5		
13	3	3,1				
14	2,9	3,1				
15	2,8	2,8				
16	2,8	2,8				
17	2,8	3,4				
18	3,4	2,8				
19	2,8	2,8				
20	3,2	2,9				
21	3,2	3,2				
22	3	2,8				
23	3	2,3				
24	2,8	2,8				
25	3,0	3,3				
26	3,2	3,3				
27	3	2,9				
28	3,2	3				
29	3	2,9				
30	3,4	3,4				
31	3,4	3				
32	3,4	2,7				
33	3,2	2,7				
34	3,4	3				