

## CAPÍTULO V

### CONTROLE FÍSICO-QUÍMICO DO LEITE

O controle da qualidade físico-química e microbiológica do leite que chega à plataforma de recepção da usina de beneficiamento ou da indústria é fundamental para a garantia da saúde da população e deve constituir-se num procedimento de rotina.

A qualidade do leite pode ser evidenciada por meio de determinações físico-químicas, provas de higiene, reações colorimétricas e provas organolépticas. Através do exame qualitativo, é possível identificar a adição de substâncias adulterantes, a eventual presença de substâncias conservantes e mesmo fazer o cálculo aproximado ou exato do rendimento industrial.

No Brasil, a maioria das indústrias ainda utiliza o pagamento por qualidade físico-química. As indústrias que pretendem introduzir parâmetros microbiológicos usam a determinação da redutase ou TRAM (tempo de redução do azul

de metileno) e realizam, atualmente, a contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS). Na Europa, inclui-se ainda a contagem de células somáticas, de psicrotróficos, de esporulados, dependendo dos produtos prioritários elaborados pela indústria.

Na Tabela 5.1, destaca-se a importância das formas físicas dos elementos composicionais do leite.

Tabela 5.1 – Componentes do leite e suas formas físicas

Componente	Proporção	Estado físico
Água	87,50%	solvente, forma livre e ligada
Gordura	3,60%	emulsão
Caseína	2,70%	solução coloidal
Proteína do soro	0,60%	solução verdadeira
Lactose	4,90%	solução verdadeira
Sais minerais	0,70%	sol. coloidal e sol. verdadeira

Fonte: Alais, Ch. (1985).

O conhecimento das diferentes fases em que se encontram os componentes do leite é importante no preparo da amostra, cuja homogeneização adequada influi diretamente sobre os resultados das análises. Quando o leite é recebido em latões ou carros tanques, deve ser agitado manual ou mecanicamente. No caso de caminhões tanques, é mais adequado retirar a amostra quando o leite for transferido para o tanque de recepção. As amostras devem ser colocadas em frascos de boca larga, limpos e secos. Se não for possível analisar imediatamente, guardar em refrigeração e, se for necessário transporte ou envio para laboratório, é possível o uso de conservantes (cloreto de mercúrio, cromato de potássio, formol etc.). As concentrações recomendadas são: bicromato de potássio 1 g/litro; bicloreto de mercúrio 0,5 g/litro e formol 40%, na dosagem de 1 ml/litro. Para a análise microbiológica, é preciso esterilizar os frascos adequadamente, não sendo permitido o uso de conservantes. Identificar as

amostras com os dados do produtor (número e iniciais) deve ser um procedimento habitual.

Quando a amostra chegar ao laboratório, aquecê-la em banho-maria a 38°C e resfriar até a temperatura de 15°C aproximadamente.

De acordo com o RIISPOA (art. 476), considera-se normal o leite que apresente:

- a) teor de gordura mínima: 3%;
- b) acidez entre 15 e 20°D;
- c) densidade a 15°C entre 1.028 e 1.033;
- d) lactose: mínimo 4,7%;
- e) extrato seco desengordurado (ESD): mínimo 8,5%;
- f) extrato seco total (EST): mínimo 11,5%;
- g) ponto de congelamento: -0,540°H;
- h) índice de refração: não inferior a 37°Zeiss.

Convém lembrar ainda algumas características físico-químicas do leite:

a) reação química: pH normal: 6,6-6,8; acidez titulável: 14-18°D;

b) propriedades óticas: a cor do leite é o resultado da reflexão da luz pelos glóbulos de gordura e pelas partículas coloidais da caseína e do fosfato de cálcio. Caseína e sais coloidais apresentam cor branca e opacidade porque refletem totalmente a luz. A operação de homogeneização torna o leite mais branco por ocorrer maior dispersão da luz. Quanto aos pigmentos, o caroteno é reconhecido por sua cor amarela, em virtude da gordura, e a riboflavina pela cor amarelo-esverdeada, no soro;

c) gravidade específica ou densidade: de 1.028 a 1.032;

d) ponto de congelamento: -0,535 a -0,545°C;

e) ponto de ebulição: a 100,17°C;

f) índice de refração: de 1,3440 a 1,3485 (difícil de determinar devido à opacidade);

g) condutibilidade elétrica: o leite apresenta 0,005<sup>-1</sup> ohms ou em resistência 200 ohms (cond = 1/R); 49 a 78% da condutividade deve-se ao íons cloro. Esta propriedade pode

ser utilizada para testes condutimétricos, na avaliação de doenças do animal, como a mastite, onde ocorre aumento destes íons cloro;

h) viscosidade absoluta específica: 1,6 a 2,15;

i) potencial de óxido-redução (Eh): +0,20 a +0,30 volts.

O crescimento bacteriano reduz o potencial de óxido-redução pelo consumo de  $O_2$  e produção de sistemas redutores próprios das bactérias, conforme descrito nos métodos de redução de corantes.

## 5.1

### Provas físico-químicas

O elenco de provas físico-químicas a que o leite é submetido na plataforma de recepção da usina de beneficiamento ou da indústria constitui-se na determinação da acidez, da densidade, do teor de gordura, do extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD), além da determinação do ponto de congelamento e do índice de refração.

#### 5.1.1 Determinação da acidez

A titulação da acidez é de amplo uso na inspeção industrial e sanitária do leite e derivados, bem como na elaboração de laticínios, permitindo avaliar o estado de conservação e eventuais anormalidades do produto.

A acidez pode ser observada sob dois aspectos: acidez atual ou aparente e acidez real ou titulável, também conhecida como acidez ponderal.

A acidez atual corresponde ao pH com valores de 6,4 a 6,9 no leite recém-ordenhado (média 6,6 a 6,8), que se coagula ao alcançar o ponto isoelétrico da caseína (4,6 a 4,7) em uma temperatura de 20°C. A acidez atual (pH) pode ser determinada pelo uso de equipamentos (potenciômetros) ou com indicadores de pH: alizarina, amarelo de nitrazina, púr-

pura de bromocresol. Entretanto, o uso desses indicadores é inviável na plataforma, pelo ritmo acelerado de recepção do leite, por isso utiliza-se a prova do alizarol. Além dessa prova, há também a prova do álcool e o processo de Dornic.

#### a) Prova do alizarol

Esta prova possibilita a determinação rápida e aproximada da acidez do leite por colorimetria. Na realidade, trata-se de uma combinação da prova do álcool com a determinação colorimétrica do pH através do indicador alizarina (dioxiantraquinona), permitindo observar de forma simultânea a floculação da caseína e a viragem da cor devido à mudança de pH.

A técnica consiste em misturar, num tubo de ensaio, 2 ml de leite e 2 ml de solução de alizarina, 0,1% em álcool a 68% (para a preparação, consultar o anexo). A leitura e interpretação dos resultados é a seguinte:

– coloração pardo-avermelhada (tijolo) ou róseo-salmão, sem coagulação: leite normal (14-18°D);

– coloração pardo-avermelhada, coagulação fina: leite com acidez de 19 a 21°D;

– coloração amarela com coagulação: leite com acidez superior a 21°D;

– coloração violeta, sem coagulação: leite alcalinizado ou fraudado com água.

Na rotina das plataformas de recepção, utiliza-se o dosador (pistola) do alizarol por sua praticidade. Em caso de dúvida, toma-se uma amostra e procede-se à determinação de acidez titulável no laboratório.

#### b) Prova do álcool

Trata-se de uma prova rápida que permite medir a termoestabilidade do leite ao calor, ou seja, saber se o leite resiste ao processo de pasteurização, evitando que ocorra coagulação nas placas do pasteurizador (similar à prova do alizarol, sem indicador de cor). Ao acrescentar ao leite certa

quantidade de álcool etílico, produz-se uma desidratação parcial ou total de certos colóides hidrófilos, podendo haver perda de equilíbrio e conseqüente floculação. É conhecido o fato de que a estabilidade da fração protéica do leite diminui com o aumento da acidez. A prova se baseia, então, na ação desidratante do álcool desde que o leite apresente uma acidez ligeiramente superior a 20°D ou pH de 6,3 a 6,4. Com este índice de acidez, o leite contém partículas desestabilizadas que se coagulam sob a ação do álcool, cuja concentração pode variar de 68 a 80°GL. A concentração alcoólica é proporcional ao rigor com que se deseja submeter o leite ao tratamento térmico. Portanto, a coagulação pode ocorrer por efeito da acidez elevada ou do desequilíbrio salino, quando se promove a desestabilização das micelas pelo álcool. Quanto maior a concentração do álcool melhor a termoestabilidade do produto e melhores as condições de conservação do leite.

Para a realização da prova, misturar partes iguais (2 ml) de leite e álcool a 68% em tubo de ensaio. Tampar e inverter várias vezes. Observar se existem partículas de caseína coaguladas. O leite que coagula na prova do álcool não é aceito para pasteurização.

Os resultados podem ser interpretados da seguinte forma:

– coagulado: acidez acima de 22°D, leite sem resistência térmica;

– coagulação fina: acidez de 19 a 20°D, leite com baixa resistência térmica;

– sem coagulação: leite normal.

Alguns fatores podem conduzir à positividade na prova do álcool: colostro, leite de úbere infeccionado, leite com fermentação enzimática etc.

### e) Processo de Dornic

As provas do alizarol e do álcool constituem provas rápidas de plataformas e dão uma idéia aproximada da acidez do leite. Quando se necessita conhecer a acidez com exatidão,

deve-se recorrer à titulação com hidróxido de sódio N/9 ou 0,11N designada de soda Dornic. Esta prova é normalmente feita no laboratório. A determinação da acidez por titulometria fundamenta-se na neutralização das funções ácidas do leite, até o ponto de equivalência, por meio de uma solução de hidróxido de sódio de título conhecido e em presença de um indicador, a fenolftaleína (viragem pH 6,6 a 8,3, que é o ponto final da capacidade indicadora). É possível usar várias concentrações da solução dosadora (NaOH), caracterizando os diferentes graus: graus Soxhlet Henkel (SH) N/4, graus Thorner (N/10), graus Dornic (N/9).

O método de Dornic é o mais generalizado para a pesquisa rápida e exata do grau de acidez do leite.

A acidez titulável expressa a quantidade de álcali que é necessária adicionar ao leite para modificar o seu pH de 6,6 para um pH de 8,4-8,6 a 25°C, temperatura em que muda a cor da fenolftaleína. Esta capacidade de combinação de álcali (NaOH) e leite fresco é proporcionada pelos componentes: sais, proteínas do leite e dióxido de carbono dissolvido, conforme se observa na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Contribuição dos componentes para a acidez do leite fresco

Componente	% de contribuição
Caseína(s)	0,05 – 0,08
Citratos	0,01
CO <sub>2</sub>	0,01 – 0,02
Albumina (proteínas do soro)	0,01
Fosfatos restantes	0,06 – 0,12

Fonte: Sommer & Winder (1970).

O total de acidez titulável expressa em ácido láctico é de 0,12 a 0,22, valores que se devem à acidez natural ou aparente do leite. A acidez do leite fresco pode variar de 0,12 a 0,23%. De maneira geral, ela aumenta com o teor de

sólidos não-gordurosos. Mesmo quando o teor de gordura é elevado, a acidez também se eleva sensivelmente, em razão do conteúdo de sólidos não-gordurosos que estão presentes.

A titulação ácida pode ser influenciada pelo estágio de lactação, mastite, atividade enzimática e pela composição do leite fresco, conforme a porcentagem de composição indicada no quadro anterior.

Em resumo, a titulação ácida é a medida da capacidade tamponante da amostra do leite entre o pH desta amostra (6,6) e o ponto de viragem da fenolftaleína. Se existir algum grau de fermentação, o pH naturalmente será mais baixo. O pH requerido para alcançar o ponto de viragem da fenolftaleína encontra-se entre 8,3 e 8,6. Este pH de viragem varia de acordo com a concentração de sais e proteínas, a quantidade de fenolftaleína utilizada e a coloração (tonalidade) selecionada para o ponto de viragem.

Dornic propôs o uso de uma solução de soda N/9 e deu o nome de graus aos décimos de centímetros cúbicos (0,1 cm<sup>3</sup>) dessa solução, que corresponde a 0,001 g (um miligrama de ácido láctico). Uma soda deci normal corresponde a 4 g de soda cáustica, completando-se 1.000 g com água; portanto, a soda nono normal (N/9) equivale a 4,445 g de soda, num total de 1.000 g de água. Em outras palavras: cada 0,1 ml de solução Dornic gasto na titulação corresponde a 1°D ou 0,1 g de ácido láctico/litro. Pode-se denominar esses graus de "acidez Dornic" ou de "décimos de ácido por litro".

A técnica para a realização desse processo consiste em transferir, com o auxílio de uma pipeta, 10 ml de leite bem homogeneizado para um erlenmeyer; adicionar 4 ou 5 gotas de fenolftaleína e titular com a soda Dornic até atingir uma coloração ligeiramente rósea. O padrão róseo de cor (tonalidade adequada) é igual à cor que se produz ao colocar uma gota de solução alcoólica de rosa-anilina a 0,01%, quando se juntar a 11 ml de leite. Como sua exposição ao ar altera a sua concentração, a soda deve ser sempre padronizada; por isso, fazer sempre sua correção.

Cada 0,1 ml de solução Dornic gasto na titulação corresponde a 1°D ou 0,1 g de ácido láctico/litro:

$$^{\circ}D = V (\text{NaOH N/9}) \times 10$$

Por exemplo: 2,1 ml de NaOH (N/9) gastos na titulação correspondem a uma acidez de 21°D. Na prática, utiliza-se o acidímetro de Dornic.

Para expressar a acidez titulável em porcentagem de ácido láctico e considerando que 1 ml de NaOH 0,1N corresponde a 0,009 g de ácido láctico, adota-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ ácido láctico} = V \times 0,09 \text{ (g de ácido láctico/100 ml de amostra).}$$

Para encontrar a equivalência entre graus diversos (Dornic, Thorner e Soxhlet), considera-se que a reação ocorre com a neutralização do ácido láctico pela soda.



Como o peso molecular do ácido láctico é 90 g e do NaOH 40 g, tem-se:

1 mol CH<sub>3</sub>-CHOH-COOH neutraliza 1 mol NaOH;  
90 g ác. láctico - 1.000 ml NaOH N/1;  
1 ml NaOH N/10 - 0,09 g de ácido láctico.

Isto significa que:

1 ml de NaOH N/4 = 1°SH - 0,0225 g de ácido láctico;  
0,1 ml de NaOH N/9 = 1°D - 0,001 g de ácido láctico;  
0,1 ml de NaOH N/10 = 1°Th - 0,0009 g de ácido láctico.

E se se referir a litro, levando em consideração que o grau Soxhlet é determinado sobre 100 ml de leite, e os °D e °Th sobre 10 ml, tem-se que:

1 grau °SH equivale a 0,225 g de ácido láctico/litro;  
1 grau °D equivale a 0,1 g de ácido láctico/litro;  
1 grau °Th equivale a 0,09 g de ácido láctico/litro.

Outra forma de demonstrar esta correlação entre °D, °SH e °Th é:

$$\frac{^{\circ}\text{D}}{9} = \frac{^{\circ}\text{Th}}{10} = \frac{^{\circ}\text{SH}}{4}$$

Exemplos:

– Leite com 18<sup>o</sup>Th, a que acidez Dornic corresponde?

$$\frac{^{\circ}\text{D}}{9} = \frac{18}{10}$$

Logo,

$$^{\circ}\text{D} = \frac{9 \times 18}{10} = 16,2^{\circ}\text{D}$$

– Leite com 15,75<sup>o</sup>D, a quantos <sup>o</sup>S corresponde?

$$\frac{\text{D}}{9} = \frac{\text{S}}{10}$$

Logo,

$$^{\circ}\text{S} = \frac{4 \times 15,75}{9} = 7^{\circ}\text{S}$$

Para o preparo da soda Dornic e sua padronização, consultar o anexo.

### 5.1.2 Determinação da densidade

A densidade de um corpo líquido ou sólido é a relação que existe entre a massa (expressa pelo peso) e o volume deste corpo.

$$\frac{\text{Massa}}{\text{Volume}} = \text{Densidade}$$

$$D = \frac{M}{V}$$

A densidade do leite é relativa, ou seja, o quociente resultante da divisão da massa de um volume de leite por um igual de água, a certa temperatura. A determinação deste parâmetro serve para controlar, até certos limites, fraudes no leite, no que se refere à desnatagem prévia ou adição de água.

Vale lembrar a densidade dos componentes do leite de forma individual (g/cm<sup>3</sup>):

Água .....	1,000	Sólidos não-gordurosos SNG = 1,616
Gordura .....	0,930	
Lactose .....	1,666	
Proteínas .....	1,346	
Minerais .....	5,500	

A densidade média do leite pode variar de 1,027 a 1,034 g/cm<sup>3</sup> (pode-se usar também a expressão 27 a 34<sup>o</sup>GL – graus lactodensímetros), diminuindo na medida do aumento da quantidade de gordura, o que se dá quando se eleva a proporção de proteína, lactose e sais minerais.

Na rotina para a determinação da densidade, utiliza-se o termolactodensímetro (de Quevene), que apresenta graduações de 15 a 45°C e densidade de 1,015 a 1,045 (g/cm<sup>3</sup>). Como os lactodensímetros são calibrados para 15°C, deve-se fazer a correção quando o leite apresenta uma temperatura diferente desta. A temperatura da amostra deve estar abaixo de 30°C, de preferência entre 10 e 20°C.

A gordura é o único constituinte com densidade menor que a água e o que mais influi para a redução da densidade do leite. É interessante observar outros valores de densidade:

– leite desnatado .....	1,036
– leite integral .....	1,032
– creme com 20% gordura.....	1,011
– creme com 30% gordura.....	1,002
– creme com 40% gordura.....	0,993

Pode-se determinar mais facilmente a densidade do leite com um tipo especial de densímetro, chamado lactômetro. Na parte superior, existe uma escala que indica o grau lactométrico. Como a densidade depende da composição de gordura, o leite deve ser aquecido a 40°C para logo ser resfriado a 15°C. Se a temperatura não for exatamente de 15°C, deve-se ajustar o resultado de acordo com tabelas ou cálculos.

A técnica consiste em colocar uma amostra de leite (cerca de 200-250 ml) lentamente em uma proveta, tendo o cuidado de evitar a formação de espuma, e mergulhar o densímetro de modo que este flutue livremente. Fazer a leitura na altura do nível de leite. Anotar também a temperatura da amostra.

Existem várias formas de se proceder ao cálculo da correção da densidade, caso a temperatura exigida (15°C-) não tenha sido exata: pode-se recorrer a tabelas, a cálculos teóricos e à balança de Westfall.

#### a) Tabela

A partir da Tabela 5.3, que prevê temperaturas de 10 a 30°C e densidades de 1.020 a 1.035, a densidade é calculada em função da temperatura.

Tabela 5.3 – Correção da densidade em função da temperatura

Correção da Temperatura da Densidade																	
Tabela para a correção do termo-lactodensímetro																	
DENSIDADE																	
T°C	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
10	19,3	20,3	21,3	22,3	23,9	24,2	25,2	26,2	27,1	28,1	29,0	30,0	31,0	32,0	32,9	33,8	
11	19,4	20,4	21,4	22,4	23,4	24,3	25,3	26,3	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,1	34,0	
12	19,5	20,5	21,5	22,5	23,5	24,5	25,5	26,5	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,3	34,2	
13	19,6	20,6	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,5	34,4	
14	19,8	20,8	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,7	
15	20,0	21,0	22,0	23,0	24,0	25,0	26,0	27,0	28,0	29,0	30,0	31,0	32,0	33,0	34,0	35,0	
16	20,1	21,1	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2	
17	20,3	21,4	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4	
18	20,5	21,6	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,6	28,8	29,6	30,6	31,7	32,7	33,7	34,7	35,7	
19	20,7	21,8	22,8	23,8	24,8	25,8	26,9	27,9	28,9	29,9	30,9	32,0	33,0	34,0	35,0	36,0	
20	20,9	22,0	23,0	24,0	25,0	26,0	27,1	28,2	29,2	30,2	31,2	32,3	33,3	34,3	35,3	36,3	
21	21,1	22,2	23,2	24,2	25,2	26,2	27,3	28,4	29,4	30,4	31,4	32,5	33,6	34,6	35,6	36,6	
22	21,3	22,4	23,4	24,4	25,4	26,4	27,5	28,6	29,6	30,6	31,6	32,7	33,8	34,9	35,9	36,9	
23	21,5	22,6	23,6	24,6	25,6	26,6	27,7	28,8	29,9	30,9	31,9	33,0	34,1	35,2	36,2	37,2	
24	21,7	22,8	23,8	24,8	25,8	26,8	27,9	29,0	30,1	31,2	32,2	33,3	34,3	35,5	36,5	37,5	
25	21,9	23,0	24,1	25,1	26,1	27,1	28,2	29,3	30,4	31,5	32,5	33,6	34,7	35,8	36,8	37,8	
26	22,1	23,2	24,3	25,3	26,3	27,3	28,4	29,5	30,6	31,7	32,7	33,8	34,9	36,0	37,1	38,1	
27	22,3	23,4	24,5	25,5	26,5	27,5	28,8	29,7	30,8	31,9	33,0	34,1	35,2	36,3	37,4	38,4	
28	22,5	23,6	24,7	25,7	26,7	27,7	28,9	30,0	31,1	32,2	33,3	34,4	35,5	36,6	37,7	38,7	
29	22,7	23,8	24,9	26,0	27,0	28,0	29,2	30,3	31,4	32,5	33,6	34,7	35,8	36,9	38,0	39,1	
30	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39,5

Fonte: Behmer, M. L. A. (1984).

#### b) Cálculos teóricos

Neste caso, acrescentar à densidade encontrada 0,2 para cada grau de temperatura acima de 15°C, até 20°C, daí em diante 0,3. Abaixo de 15°C, diminuir 0,2 para cada grau.

Outro método que se aproxima bastante da tabela é o seguinte: junta-se 1 (um) a cada grupo de 5 (cinco) graus acima de 15°C e o resultado é multiplicado por 0,2. Soma-se o resultado à densidade encontrada. Para leite com  $T^{\circ} < 15^{\circ}\text{C}$ , procede-se como no exemplo anterior, porém diminuindo.

Exemplo:

$$D = 1.030 \quad T^{\circ} = 22^{\circ}\text{C}, \text{ logo:}$$

$$22 - 15 = 7 + 1 = 8$$

$$8 \times 0,2 = 1,6, \text{ então:}$$

$$1.030 + 1,6 = 1.031,6.$$

Outro cálculo consiste em somar 0,0002 à densidade encontrada e multiplicar pela diferença das temperaturas. Por exemplo:

$$D = D_t + 0,0002 \times (t - 15^{\circ}\text{C})$$

$$D = 1.030 + 0,0002 \times (22-15)$$

$$D = 1.030 + 0,0002 \times (7)$$

$$D = 1.031,4$$

#### c) Balança de Westfall

Para se determinar a densidade com precisão e em pequenas quantidades de leite, recorre-se à balança de Westfall, que pode registrar as seguintes alterações principais: aumento da densidade por diminuição da temperatura ou desnatamento do leite; diminuição da densidade por adição de água, gordura ou aumento da temperatura.

#### 3.1.3 Determinação do teor de gordura

O conhecimento do teor de gordura é de interesse para o sistema de pagamento de leite. Só é possível realizar esta