

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 68, DE 12 DEZEMBRO DE 2006

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 9º, inciso II, alínea e, combinado com o art. 42, do Anexo I, do Decreto nº 5.351, de 21 de janeiro de 2005, e o que consta do Processo nº 21000.001688/2003-76, resolve:

Art. 1º Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários.

Art. 2º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 3º Fica revogada [Instrução Normativa nº 22, de 14 de abril de 2003](#).

GABRIEL ALVES MACIEL

ANEXO

MÉTODOS ANALÍTICOS OFICIAIS FÍSICO-QUÍMICOS PARA CONTROLE DE LEITE E PRODUTOS LÁCTEOS

I - CONVENÇÕES

O termo água, descrito nas metodologias, será subentendido como água destilada e água corrente como água de abastecimento.

Todos os cálculos são baseados na tabela internacional de massas atômicas.

As substâncias químicas utilizadas possuem um grau de pureza suficiente para serem empregadas como reagentes. Os rótulos das mesmas, devem trazer sempre, após o nome, a declaração "para análise".

Os reagentes listados abaixo, salvo especificação contrária, têm a concentração indicada:

REAGENTE	PORCENTAGEM
ácido sulfúrico	95,0-98,0% H ₂ SO ₄
ácido clorídrico	36,5-38,0% HCl
ácido nítrico	69,0-71,0% HNO ₃
ácido nítrico (fumegante)	3 90,0% HNO ₃
ácido acético glacial	3 99,7% HC ₂ H ₃ O ₂
ácido bromídrico	47,0-49,0% HBr
hidróxido de amônio	28,0-30,0% NH ₃
ácido fosfórico	3 85,0% H ₃ PO ₄

Preparações comerciais de determinadas soluções devem ser testadas quanto à sua aplicabilidade, pois podem conter tampões, preservativos, agentes quelantes.

O termo solução, quando utilizado sem outra qualificação, refere-se a uma solução aquosa.

A expressão (1+2), (1+4), etc., usadas em conexão com o nome de reagentes indica que o primeiro

numeral refere-se ao volume do reagente utilizado, e o segundo ao volume de diluente da preparação.

Por exemplo, a solução de ácido clorídrico (1+3) significa que 1 volume de ácido clorídrico foi diluído em 3 partes de água.

Soluções descritas como 1:50 referem-se a 1 volume do reagente diluído ao volume final de 50.

O título da solução é expresso de modo que a primeira cifra indica a quantidade de substância a ser dissolvida e a segunda o volume total da dissolução.

A expressão de uma solução sob a forma de porcentagem pode estar em uma das quatro formas:

Por cento (m/m) (massa em massa), compreendida como x grama da substância contidas em 100 g da solução.

Por cento (m/v) (massa em volume), expressando x grama da substância em 100 mL da solução.

Por cento (v/v) (volume em volume), significando x mL da substância em 100 mL da solução.

Por cento (v/m) (volume em massa), expressando x mL da substância em 100 g da solução.

Instrumentos mais precisos eventualmente poderão ser substituídos por outros menos precisos, por exemplo, um espectrofotômetro por um colorímetro. O comprimento de onda, indicado no método, deverá ser entendido como aquele onde haverá um máximo de absorvância.

Absorvância (A) é definida como o logaritmo negativo na base 10, da taxa de transmitância (T) da amostra, em relação à substância ou material de referência. Outras denominações propostas para esse termo são: densidade óptica e extinção.

Absortividade (a) significa absorvância por unidade de concentração e comprimento da célula. $a = A/bc$, onde b é a medida em centímetros do comprimento da célula, e c significa a concentração em g/L. Outros nomes propostos são: extinção, índice de absorvância e E1% 1cm.

Transmitância (T) refere-se à taxa de energia transmitida por uma amostra em relação à energia incidente, quando ambas são medidas na mesma linha espectral e com a mesma largura de fenda. O feixe luminoso é subentendido como uma radiação paralela que incide em ângulo reto ao plano paralelo à superfície da amostra. Outra denominação usada é transmissão.

Padronização:

Os espectrofotômetros podem ser calibrados quanto à exatidão da escala do comprimento de onda, usando como referência as linhas do Hg: 239,94 - 248,3 - 253,65 - 265,3 - 280,4 - 302,25 - 313,16 - 334,15 - 365,43 - 404,66 - 435,83 - 546,07 - 578,0 e 1014,0 nm .

Para verificar a exatidão da escala de absorvância, prepara-se uma solução de 0,0400 g de cromato de potássio em 1 litro de hidróxido de potássio 0,05 N. Determina-se a absorvância, em célula de 1 cm, nos seguintes comprimentos de onda: 230 nm = 0,171; 275 nm = 0,757; 313,2 nm = 0,043; 375 nm = 0,991; 400 nm = 0,396.

Recuperação (R) do analito Uma fração de um analito é adicionada a uma amostra (amostra fortificada) antes de proceder-se à análise. Em seguida, quantifica-se a substância nas amostras fortificada e não fortificada, utilizando-se a mesma metodologia. A porcentagem de R é calculada pela fórmula:

$$\% R = \frac{CF - CN}{CN} \times 100$$

CA

Onde:

CF = concentração do analito medida na amostra fortificada

CN = concentração do analito medida na amostra não fortificada

CA = concentração do analito adicionada

Observação: CA é o valor calculado, não o valor medido pelo método. A concentração do analito adicionada mais a quantidade presente na amostra antes da fortificação não devem exceder o valor real observado para o substrato utilizado. Também não devem exceder a faixa ótima linear da curva padrão. As amostras devem ser tratadas de maneira idêntica, durante o procedimento analítico, de modo a minimizar os erros experimentais.

A escala de temperatura usada é a centígrada (Celsius).

Lugar fresco significa que a temperatura não deverá ultrapassar 25 °C; lugar frio significa que a temperatura não superior a 15 °C; água quente é aquela cuja temperatura situa-se entre 60 e 70 °C;

e muito quente entre 85 e 95 °C.

Unidades de comprimento

Milímetro	mm = 10 ⁻³ m
micrômetro, microm ou mm	mm = 10 ⁻⁶ m
Nanômetro	nm = 10 ⁻⁹ m

Unidades de volume

Mililitro (= cm ³ ou cc)	mL
Microlitro	mL

Unidades de massa

micrograma	mg (ou mcg)
Nanograma	Ng

1 nm = 10⁻⁹ m = 1mm = 10 Angstrons

ppm (parte por milhão) = mg/Kg = mg/g = mg/L

ppb (parte por bilhão) = mg/Kg = ng/g

Pesar exatamente significa empregar balança analítica de precisão observando até a quarta casa decimal.

Ponderável é o adjetivo que se dá à quantidade de substância cujo peso supere a 0,0005 g.

Medir exatamente significa medir o volume de um líquido usando material volumétrico previamente calibrado.

As gotas devem ser contadas, escorrendo o líquido livremente.

Vinte gotas de água, contadas à temperatura de 15 °C, devem pesar 1 g (±0,02 g).

A expressão "até massa constante" significa que a variação entre duas pesagens consecutivas não deve

ultrapassar a 0,5 mg para cada grama de substância.

Banho-maria é a terminologia atualmente empregada em substituição à expressão banho-maria, devendo vir acompanhada da especificação de temperatura, em graus Celsius ou, ainda com as seguintes expressões: fervente, morna ou gelada.

Banho-maria, sem a indicação de temperatura, é a denominação do processo de aquecimento onde o recipiente contendo a substância é mergulhado em água em ebulição. Tem o mesmo significado que banho-maria.

Densidade ou peso específico representa a relação entre o peso aparente de uma substância ao ar a 25 °C e o peso de igual volume de água nas mesmas condições de temperatura e pressão. De modo geral, a densidade adotada é 25/25 °C.

A expressão "cerca" significa que a quantidade empregada oscilará no máximo de 10% do valor adotado.

Se não for indicada a temperatura, subentende-se que as reações ocorrerão a temperatura ambiente. Se não for especificado o tempo de duração da reação, a verificação dos resultados deverá ser imediata.

A presença de substâncias estranhas em quantidades não justificáveis e que não possam ser atribuídas aos processos de obtenção dos reagentes empregados, poderá induzir a interpretação do fato como adulteração intencional, cujas consequências estão previstas na legislação em vigor.

Impureza é toda a substância estranha presente na matériaprima ou reagentes, oriundas do processo de obtenção, acondicionamento, conservação e manipulação.

Fatores de conversão:

De	Para	Multiplicar por
mg%	mg%	1.000
mg%	mEq/L	(10/eqg)
Mg%	mg/L	10
mg%	mg%	0,001
mg%	mEq/L	(0,01/eqg)
mg%	mg/L	0,01
mEq/L	mg%	0,1 x eqg
mEq/L	mg%	100 x eqg
mEq/L	mg/L	eqg
molar	mg/L	1.000 x peso atômico
% em peso	Ppm	10.000
ppm	% em peso	0,0001
mg/L	mg%	0,1
mg/L	mg%	100
mg/L	MEq/L	(1 / eqg)
mg/L	g/L	0,001
mg/L	molar	(1 / 1.000 x peso atômico)

BIBLIOGRAFIA

FUNDAÇÃO CERTI. Calibração. In: _____. Curso metrologia

e confiabilidade metrológica. Florianópolis:

Centros de Referências em Tecnologias Inovadas, 1998.cap.6.

HELDRICH, K. (Ed.). Definition of Terms and Explanatory Notes. In: _____. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants. 15th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, p.xi-xvii..

INMETRO. Vocabulário Internacional de termos fundamentais e gerais em metrologia. Duque de Caxias, RJ, 1995. 52p.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Generalidades.

In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz:

métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, cap.1, p.1- 3.

II - RECOMENDAÇÕES GERAIS

CUIDADOS GERAIS DE LABORATÓRIO

Usar sempre o material de proteção (luvas, óculos, máscaras, etc.) indicado para cada caso particular. Segurança é um dever e uma obrigação.

Manter sempre limpo o local de trabalho, evitando obstáculos inúteis que possam dificultar as análises.

Usar uniformes adequados, de preferência em tecido de algodão, longo e fechado com velcro e sem bolsos inferiores.

Proteger muito bem os pés, usando calçados adequados, bem fechados.

Não correr dentro do laboratório.

Comer, beber ou fumar somente nos locais permitidos.

Não jogar na cesta de lixo fósforos acesos. Usar cinzeiros nos locais onde for permitido fumar.

Não usar nenhum objeto ou utensílio de laboratório para uso individual. Por exemplo, não tomar água em bécquer.

Ler os rótulos dos reagentes com atenção (inflamável, tóxicos, etc.) e utilizar os mesmos com os devidos cuidados.

Tomar os cuidados necessários ao trabalhar com substâncias ácidas e básicas.

Quando for diluir ácidos fortes, adicionar sempre o ácido à água e nunca o contrário.

Ao preparar soluções que produzem reações exotérmicas fortes utilizar capela de exaustão e banho de gelo.

Não colocar as tampas dos frascos e pipetas sobre a bancada.

Ao preparar reagentes, rotular imediatamente os frascos, para evitar confusões.

Ao derramar alguma substância sobre a bancada ou chão, limpar imediatamente o local para evitar acidentes.

Não trabalhar e não deixar frascos com inflamáveis próximos de chamas ou resistências elétricas.

Não aquecer substâncias combustíveis (álcool, benzeno, etc.) sem os devidos cuidados. Usar manta térmica ou banho-maria.

Não inalar vapores de gases irritantes ou venenosos. Utilizar a capela de exaustão na presença dos mesmos.

Ter muita cautela ao testar um novo produto químico; não colocá-lo próximo ao nariz.

Nunca deixar sem atenção qualquer operação onde haja aquecimento ou reação violenta.

Não deixar sobre a bancada vidros quentes; se isto for necessário, avisar a todos os colegas.

Nunca trabalhar ou aquecer tubos de ensaio com abertura dirigida contra si ou outra pessoa. Direcionar para o interior da capela.

Não aquecer reagentes em sistemas fechados.

Ligar o exaustor sempre que houver escape de vapores ou gases no laboratório.

Antes de proceder uma reação da qual não saiba totalmente os resultados, fazer uma em escala na capela.

Não trabalhar com material imperfeito principalmente vidros.

Improvisações são o primeiro passo para um acidente.

Após trabalhar com material tóxico, lavar bem as mãos, o local de trabalho e os materiais utilizados.

Lubrificar os tubos de vidro, antes de tampá-los com uma rolha.

Proteger as mãos com luvas apropriadas.

Não jogar nenhum material sólido dentro da pia ou nos ralos.

Colocar em recipientes especiais para lixo. Quando não forem inflamáveis ou tóxicos, podem ser despejados na pia, com bastante água.

Ter o conhecimento da localização dos chuveiros de emergência, lavadores de olhos e extintores e saber utilizá-los corretamente.

Combustíveis e substâncias altamente inflamáveis devem ter local próprio e bem determinado no laboratório, pois podem inflamarse acidentalmente devido à falhas nas instalações elétricas ou por elevação da temperatura local acima do ponto de ignição das mesmas.

Algumas substâncias se alteram à temperatura ambiente devendo ser conservadas em câmara fria, geladeira ou freezer.

Substâncias higroscópicas devem ser acondicionadas em dessecador.

Manter ao abrigo da luz substâncias fotossensíveis.

Em incêndio produzido por papel, madeira ou material que deixa brasa ou cinzas, usar água. Dirigir o jato de água para a base do fogo.

Os recipientes contendo líquido, quando se inflamam devem ser cobertos com tela de amianto, ou outro objeto apropriado, para evitar a entrada de ar, apagando deste modo o fogo.

Não jogar água em fogo produzido por líquidos inflamáveis que não sejam miscíveis em água. Apague as chamas com extintores (espuma, pó químico ou CO₂) ou abafe imediatamente.

Não usar extintores de líquido em circuitos elétricos; usar sempre extintores de CO₂.

Ao se retirar do laboratório, verificar se não há torneiras de água ou gás abertas. Desligar todos os aparelhos, deixar todo o equipamento limpo e lavar as mãos. Fechar as janelas, apagar a luz e fechar a porta.

NORMAS DE RECEBIMENTO DE AMOSTRAS NO LABORATÓRIO

A colheita da amostra constitui a primeira fase da análise do produto.

Dentro do conceito de que a análise começa com a colheita da amostra, o serviço de colheita deve estar bem integrado com o laboratório, devendo haver sincronismo entre a remessa e a capacidade do laboratório em executar as análises.

As amostras para análises físico-químicas deverão ser enviadas separadas daquelas destinadas à análises microbiológicas.

As amostras devem ser enviadas em sua embalagem original, para evitar modificações em suas características.

As amostras para análises físico-químicas deverão ser acondicionadas em recipientes limpos e íntegros (sem perfurações, rachaduras, etc.). A quantidade mínima de amostra a ser encaminhada deve ser de 500 g ou 1.000 mL no caso de leite fluído. Quando o peso unitário não atingir o mínimo aqui estabelecido, deverão ser colhidas tantas unidades quantas necessárias para se obter aquele quantitativo. Neste caso, cuidados especiais são necessários para que todas as unidades pertençam ao mesmo lote, partida, data de fabricação, etc., a fim de serem mantidas as características de homogeneidade da amostra.

Em casos especiais, a amostra poderá ser acompanhada de relatório adicional, contendo informações que possam auxiliar o analista na condução do seu trabalho.

As amostras deverão ser acompanhadas de indicação precisa dos tipos de análises a serem realizadas.

Depois de colhidas, as amostras deverão ser acondicionadas adequadamente, para evitar qualquer alteração nas mesmas até sua chegada ao laboratório. Assim, as amostras de produtos facilmente perecíveis deverão ser acondicionadas em recipientes isotérmicos, embaladas em sacos plásticos e acompanhadas de gelo ou outra substância refrigerante, cuidando-se sempre para que não haja contatos desses com a amostra.

Providências especiais deverão ser tomadas para que o tempo decorrido entre a colheita da amostra e sua chegada ao laboratório seja o mais breve possível, recomendando-se que seja evitada a utilização de mecanismos que impliquem em estocagem intermediária entre o ponto de colheita e o laboratório.

Somente serão aceitas para análise, amostras acondicionadas em embalagem lacrada pelo fiscal que efetuou a colheita, sugerindo-se para tal, a utilização de lacre ou outro tipo de fechamento hermético, que não possa ser violado sem que se torne evidente. Tal providência se faz necessária para evitar a substituição ou adulteração da amostra entre o ponto de colheita e o laboratório, com reflexos no resultado da análise.

Todas as amostras que chegarem ao laboratório em condições diferentes das preconizadas, serão recusadas, cabendo ao laboratório notificar o fiscal que realizou a colheita as razões da não aceitação.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional

de Referência Animal.

Recomendações gerais. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, p. L/1-L/ 6.

MANUAL de legislação: segurança e medicina do trabalho. São Paulo: Atlas, 1997.

THE MERCK index. 10th ed. New Jersey, 1983. 22 p.

III - CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E PREPARO DE AMOSTRAS

CASEÍNA INDUSTRIAL

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: granuloso ou pulverizado;

1.2. Cor: branca ou amarelada;

1.3. Odor: levemente de soro azedo.

2. Preparo da amostra Homogeneizar a amostra, passar quantidade suficiente para frasco de boca larga e fechar hermeticamente.

CREME DE LEITE

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: cremoso;

1.2. Cor: branco-creme;

1.3. Odor: característico;

1.4. Sabor: característico.

2. Preparo da amostra

Agitar a embalagem, abrir e homogeneizar com bastão de vidro e quando necessário aquecer até 55 °C em banho-maria durante 10 minutos.

DOCE DE LEITE

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: homogêneo e pastoso ou sólido quando em barra;

1.2. Cor: caramelo variando do claro ao escuro;

1.3. Odor: agradável e característico;

1.4. Sabor: agradável e característico.

2. Preparo da amostra

Homogeneizar. Conservar em geladeira.

LEITE CONDENSADO

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: homogêneo, líquido semi-fluído;

1.2. Cor: branco-amarelada;

1.3. Odor: característico;

1.4. Sabor: doce e característico.

2. Preparo da amostra

Agitar a embalagem, abrir e homogeneizar com bastão de vidro.

LEITE FERMENTADO

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: fluído, pastoso ou gelificado;

1.2. Cor: branco ou de acordo com a(s) substância(s) alimentícia(s) e/ou corante(s) adicionado(s);

1.3. Odor: acidulado, de acordo com a(s) substância(s) alimentícia(s) e/ou substância(s) aromatizante(s) adicionada(s);

1.4. Sabor: acidulado, de acordo com a(s) substância(s) alimentícia(s) e/ou substância(s) saborizante(s) adicionada(s).

2. Preparo da amostra

Iogurte natural: agitar a embalagem, abrir e homogeneizar com bastão de vidro;

Iogurte com frutas: homogeneizar em gral ou processador.

LEITE FLUÍDO BENEFICIADO

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: líquido opaco, não deve apresentar grumos, coágulo, flóculos ou mucosidade e a camada de gordura não deve ser filante;

1.2. Cor: branca ou levemente amarelada;

1.3. Odor: característico, não deve ser aromático, pútrido ou rançoso;

1.4. Sabor: característico, não deve ser de gosto amargo, ácido ou rançoso.

2. Preparo da amostra

Homogeneizar a amostra a 15 °C, agitando e invertendo o recipiente ou embalagem 5 ou 6 vezes. Quando a amostra contiver grumos de creme, aquecer de 38 a 40 °C em banho-maria, esfriar até 15 °C agitando ocasionalmente.

LEITE IN NATURA

1. Características sensoriais

- 1.1. Aspecto: líquido opaco;
- 1.2. Cor: branca ou levemente amarelada;
- 1.3. Odor: característico;
- 1.4. Sabor: característico.

2. Preparo da amostra

Homogeneizar a amostra a 15 °C ou se necessário, em banho-maria a 40 °C.

LEITE EM PÓ

1. Características sensoriais

- 1.1. Aspecto: pó, não deve conter grumos ou partículas queimadas;
- 1.2. Cor: branca ou levemente amarelada;
- 1.3. Odor: característico;
- 1.4. Sabor: característico.

2. Preparo da amostra

O leite em pó é higroscópico, sendo recomendado homogeneizar rapidamente a amostra. Passar quantidade suficiente para vidro de boca larga e fechar hermeticamente.

MANTEIGA

1. Características sensoriais

- 1.1. Aspecto: homogêneo e brilhante;
- 1.2. Consistência: untuoso ao tato sem granulação, textura firme em temperatura de refrigeração;
- 1.3. Cor: amarelada e homogênea;
- 1.4. Odor: característico;
- 1.5. Sabor: característico.

2. Preparo da amostra

Com auxílio de uma espátula limpa e seca, passar diversas porções de amostra para vidro de boca larga de 250 mL de capacidade, colocando 2/3 do seu volume. Fechar o frasco e aquecer em banhomaria a 35 °C ou em estufa. A operação de aquecimento deve ser cuidadosa, pois se for exagerada haverá fusão da amostra, tornando-se impossível de reconstituí-la novamente. Retirar do aquecimento e agitar com bastão de vidro, com movimentos de rotação até que a massa fique homogênea. Esfriar, colocando o vidro em água gelada.

MANTEIGA DA TERRA, OU DE GARRAFA, OU DO SERTÃO

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: pastoso e/ou líquido, podendo ocorrer separação de fase entre a gordura insaturada (líquida) e gordura saturada (cristalizada à temperatura ambiente);

1.2. Cor: amarela na fase líquida, podendo apresentar coloração amarelo-esbranquiçada na fase sólida;

1.3. Odor: próprio, não rançoso, isento de odores estranhos ou desagradáveis;

1.4. Sabor: próprio, isento de sabores estranhos ou desagradáveis.

2. Preparo da amostra Aquecer a amostra a 35 °C e homogeneizar (quando necessário).

Resfriar para obter consistência pastosa e homogeneizar novamente.

MARGARINA

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: emulsão plástica ou fluída, homogênea ou uniforme;

1.2. Cor: amarela ou branca-amarelada, homogênea;

1.3. Odor: característico;

1.4. Sabor: característico.

2. Preparo da amostra

Homogeneizar. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO BATAVO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: compacta, semi-dura de untura manteigosa;

1.2. Cor: amarelada;

1.3. Crosta: fina, lisa, de cor amarelada e parafinada;

1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: forte e tendendo a picante;

1.6. Textura: olhadura irregular pequena e pouco numerosa.

2. Forma e peso

2.1. Formato: cilíndrico baixo ou paralelepípedo;

2.2. Peso: 1 a 3 kg

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO CHEDDAR

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: dura, meio friável de untura seca;

1.2. Cor: amarelo-palha, homogênea, translúcida;

1.3. Crosta: fina, firme, meio rugosa de cor amarelo-parda, untura de óleo vegetal, com ou sem parafina;

1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: característico, suave e adocicado;

1.6. Textura: fechada.

2. Forma e peso

2.1. Formato: cilíndrico, bordas retas e faces planas formando ângulo vivo;

2.2. Peso: 7 a 8 kg

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO DE COALHO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semidura, elástica;

1.2. Cor: branco amarelado uniforme;

1.3. Crosta: fina, sem trinca, não sendo usual a formação de casca bem definida;

1.4. Odor: ligeiramente ácido, lembrando massa coagulada;

1.5. Sabor: brando, ligeiramente ácido, podendo ser salgado;

1.6. Textura: algumas olhaduras pequenas ou sem olhaduras.

2. Forma e peso

2.1. Formato: variável;

2.2. Peso: variável.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO DANBO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, elástica;

1.2. Cor: branco - amarelado, uniforme;

1.3. Crosta: não possui;

1.4. Odor: característico, pouco acentuado;

1.5. Sabor: láctico, suave, ligeiramente salgado, característico;

1.6. Textura: compacta, lisa, não granulada ou com algumas olhaduras pequenas bem distribuídas.

2. Forma e peso

2.1. Formato: paralelepípedo de seção transversal retangular;

2.2. Peso: 2 a 6 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO EDAM OU REINO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: massa semi-dura, pouco elástica de untura tendendo a seca;

1.2. Cor: amarelo-palha ou amarelada, homogênea, podendo ter tonalidade rósea;

1.3. Crosta: fina, lisa de coloração vermelho ou róseo com ou sem parafina;

1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: característico, suavemente picante, com sabor adocicado;

1.6. Textura: aberta, com olhos de contorno nítido de fundo brilhante de aproximadamente 3 mm.

2. Forma e Peso

2.1. Formato: esférico;

2.2. Peso: 1,8 a 2 kg 3. Preparo da amostra Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO EMENTAL

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, elástica de untura semi-manteigosa;

1.2. Cor: amarelo-claro, homogênea e translúcida;

- 1.3. Crosta: firme, grossa, lisa de cor amarelo-parda;
 - 1.4. Odor: característico;
 - 1.5. Sabor: característico, agradável, de sabor tendendo a adocicado e picante suave;
 - 1.6. Textura: olhadura bem formada com olhos de 10 a 25 mm de diâmetro.
2. Forma e peso
 - 2.1. Formato: variável;
 - 2.2. Peso: 60 a 120 kg
3. Preparo da amostra Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO ESTEPE

1. Características sensoriais
 - 1.1. Consistência: compacta, semi-dura, elástica de untura manteigosa;
 - 1.2. Cor: amarelo palha;
 - 1.3. Crosta: grossa, bem formada, lisa, amarelada, com ou sem parafina;
 - 1.4. Odor: característico, semelhante ao queijo prato, mais pronunciado;
 - 1.5. Sabor: suave, não picante e adocicado;
 - 1.6. Textura: olhadura redonda ou ovalar, regularmente distribuída e pouco numerosa e com olhos de 3 a 5 mm, de fundo raso e brilhante.
2. Forma e peso
 - 2.1. Formato: retangular, com ângulos vivos;
 - 2.2. Peso: 5,5 a 6,5 kg
3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO GOUDA

1. Características sensoriais
 - 1.1. Aspecto: semelhante ao queijo prato, apresentando textura mais firme e de paladar mais picante;
 - 1.2. Cor: amarelado ou amarelo-palha;
 - 1.3. Crosta: não possui ou com crosta fina, lisa, sem trincas;
 - 1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: mais picante que o queijo prato, característico;

1.6. Textura: mais firme que a do queijo prato.

2. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO GRUYÉRE

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, elástica de untura semi-manteigosa;

1.2. Cor: amarelo-claro, homogênea e translúcida;

1.3. Crosta: firme, grossa, lisa de cor amarelo-parda;

1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: característico, agradável, de sabor tendendo a adocicado e picante suave;

1.6. Textura: olhadura ovalar com olhos de 4 a 10 mm de diâmetro, regularmente distribuídos.

2. Forma e peso

2.1. Formato: cilíndrico, de faces planas e bordas ligeiramente convexas, formando ângulo vivo;

2.2. Peso: 20 a 45 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO LIMBURGO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: pastosa, tendendo a mole e de untura manteigosa;

1.2. Cor: branco-creme, podendo apresentar leve tonalidade rósea;

1.3. Crosta: fina, lisa, úmida e pegajosa;

1.4. Odor: característico, tendendo a amoniacal;

1.5. Sabor: característico, salgado e picante;

1.6. Textura: fechada ou com poucos buracos mecânicos.

2. Forma e peso

2.1. Formato: paralelepípedo;

2.2. Peso: 250 a 300g.

3. Preparo da amostra Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO DE MANTEIGA OU DO SERTÃO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: macia, tendendo à untuosidade;

1.2. Cor: amarelo-palha;

1.3. Crosta: fina, sem trinca;

1.4. Odor: pouco pronunciado, lembrando manteiga;

1.5. Sabor: pouco acentuado, lembrando manteiga, levemente ácido e podendo ser salgado;

1.6. Textura: fechada, semi-friável, com pequenos orifícios mecânicos contendo gordura líquida no seu interior.

2. Forma e peso

2.1. Formato: variável;

2.2. Peso: variável.

3. Preparo da amostra Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em gral, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO MINAS PADRÃO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, tendendo a macia e de untura manteigosa;

1.2. Cor: branco-creme;

1.3. Crosta: fina, amarelada com ou sem revestimento de parafina;

1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: característico, ácido agradável e não picante;

1.6. Textura: buracos mecânicos e em cabeça de alfinetes, poucos numerosos.

2. Forma e peso

2.1. Formato: cilíndrico;

2.2. Peso: 1 a 1,2 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO MINAS FRESCAL

1. Características sensoriais

- 1.1. Consistência: branda, macia;
- 1.2. Cor: esbranquiçada;
- 1.3. Crosta: não possui ou crosta fina;
- 1.4. Odor: característico, suave;
- 1.5. Sabor: característico, suave ou levemente ácido;
- 1.6. Textura: com ou sem olhaduras mecânicas.

2. Forma e peso

- 2.1. Formato: cilíndrico;
- 2.2. Peso: 0,3 a 5 kg.

3. Preparo da amostra Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em gral, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO MUSSARELA, QUEIJO MUZZARELLA OU QUEIJO MOZZARELLA

1. Características sensoriais

- 1.1. Consistência: semi-dura e semi-suave;
- 1.2. Cor: branco a amarelado, uniforme, segundo o conteúdo de matéria gorda, umidade e grau de maturação;
- 1.3. Crosta: não possui;
- 1.4. Odor: láctico, pouco perceptível;
- 1.5. Sabor: láctico, pouco desenvolvido a ligeiramente picante;
- 1.6. Textura: fibrosa, elástica e fechada.

2. Forma e peso

- 2.1. Formato: variável;
- 2.2. Peso: variável.

Observação: Quando o queijo mussarela contiver especiarias, condimentos e substâncias e/ou aromatizante/saborizante, apresentará as características sensoriais de acordo com as adições efetuadas.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO EM PÓ

1. Características sensoriais

1.1. Aroma: de queijo, característico de cada variedade, livre de odores estranhos;

1.2. Aspecto: pó fino, homogêneo;

1.3. Cor: esbranquiçado, amarelado, salvo naqueles produtos que contenham corantes ou outro ingrediente opcional em sua formulação, que confirmam cor ao produto final;

1.4. Sabor: de queijo, de acordo com a variedade ou as variedades de queijos que lhe transfiram sabor característico ou de acordo ao aromatizante/saborizante utilizado em sua elaboração e livre de sabores estranhos.

2. Preparo da amostra

Homogeneizar a amostra, passar quantidade suficiente para vidro de boca larga e fechar hermeticamente.

QUEIJO PATEGRÁS SANDWICH

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, elástica;

1.2. Cor: branco amarelado, uniforme;

1.3. Crosta: lisa, consistente, bem formada, sem rachaduras nem trincas, ou sem crosta;

1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: acentuado, característico, ligeiramente picante;

1.6. Textura: compacta, lisa, não granulosa, podendo apresentar algumas aberturas mecânicas e alguns olhos pequenos ou médios bem distribuídos.

2. Forma e peso

2.1. Formato: paralelepípedo de seção transversal retangular;

2.2. Peso: 3 a 5 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJOS TIPO PARMESÃO, PARMESANO REGGIANO, REGGIANITO E SBRINZ

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: dura e maciça de untura seca;

1.2. Cor: amarelo-palha, homogêneo;

1.3. Crosta: lisa, firme, não pegajosa, untura com óleo secativo ou verniz próprio;

1.4. Odor: característico e forte;

1.5. Sabor: característico, picante e forte;

1.6. Textura: compacta e fechada, com olhos pequenos e no formato de cabeça de alfinete, superfície de fratura granulosa, de grânulos pequenos e homogêneos.

2. Forma e peso

2.1. Formato: cilíndrico de faces planas, de perfil ligeiramente convexo.

2.2. Peso:

Parmessão: 4 a 8 kg;

Reggianito e Sbrinz: 5 a 10 kg;

Parmesano: mais de 20 kg;

Reggiano: 10 a 20 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO PRATO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, elástica;

1.2. Cor: amarelado ou amarelo-palha;

1.3. Crosta: não possui ou com crosta fina, lisa e sem trincas;

1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: característico;

1.6. Textura: compacta, lisa, fechada, com alguns olhos pequenos arredondados e/ou algumas olhaduras mecânicas.

2. Forma e peso

2.1 Formato: Queijo Prato, Queijo Prato (lanche ou sandwich): paralelepípedo de seção transversal, retangular; Queijo Prato (cobocó): cilíndrico; Queijo Prato (esférico ou bola): esférico.

2.2. Peso: 0,4 a 5 Kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em

processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO PROCESSADO OU FUNDIDO, PROCESSADO

PASTEURIZADO E PROCESSADO FUNDIDO UHT

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: firme, macia ou cremosa;

1.2. Cor, odor e sabor: similar ao queijo ou mistura de queijos utilizados, ou de acordo com os corantes, saborizantes/aromatizantes e ou outras substâncias alimentícias utilizadas em sua elaboração;

1.3. Textura: fechada e fina.

2. Forma e peso

2.1. Formato: variável, ralado ou fatiado,(em fatias ou em rodelas) e outras.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO PROVOLONE FRESCO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura e semi-suave;

1.2. Cor: branco a amarelado, uniforme, segundo o conteúdo de matéria gorda, umidade e grau de maturação;

1.3. Crosta: não possui;

1.4. Odor: láctico, pouco desenvolvido;

1.5. Sabor: láctico, pouco desenvolvido a ligeiramente picante;

1.6. Textura: fibrosa, elástica e fechada.

2. Forma e peso 2.1. Formato: variável, tendente a esférico;

2.2. Peso: 0,5 kg a 2,0kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO PROVOLONE CURADO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: dura, não elástica, quebradiça, de untura semi-seca;

1.2. Cor: branco-creme, homogênea;

- 1.3. Crosta: fina, lisa, resistente, destacável, cor amareloparda com ou sem parafina;
- 1.4. Odor: característico;
- 1.5. Sabor: característico, forte e picante;
- 1.6. Textura: fechada ou apresentando poucos olhos em formato de cabeça de alfinete.

2. Forma e peso

- 2.1. Formato: tendente a esférico ou oval;
- 2.2. Peso: 1 a 8 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO RALADO

1. Características sensoriais

- 1.1. Aspecto e textura: grânulos ou filetes mais ou menos finos;
- 1.2. Cor: branco amarelado e amarelo, dependendo da variedade de queijos das quais provenha;
- 1.3. Odor: característico, mais ou menos intenso, de acordo com a variedade ou variedades de queijos das quais provenha.

2. Preparo da amostra

Homogeneizar a amostra, passar quantidade suficiente para vidro de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TIPO ROQUEFORT E GORGONZOLA

1. Características sensoriais

- 1.1. Consistência: mole, esfarelante, com untura manteigosa;
- 1.2. Cor: branco-creme à amarelada, apresentando formações características verde-azuladas bem distribuídas, devido ao *Penicilium roquefort*;
- 1.3. Crosta: fina, úmida, pegajosa, de cor amarelada;
- 1.4. Odor: característico;
- 1.5. Sabor: salgado e picante;
- 1.6. Textura: fechada ou com poucos e pequenos buracos mecânicos.

2. Forma e peso

- 2.1. Formato: cilíndrico;

2.2. Peso: 2 e 2,2 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO SICILIANO E FONTINA

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: massa semi-dura, elástica e de untura semi-manteigosa;

1.2. Cor: branco-creme e amarelo-palha, homogênea;

1.3. Crosta: grossa, lisa de cor amarelada, preferentemente revestida de parafina;

1.4. Odor: característico e picante;

1.5. Sabor: característico e picante;

1.6. Textura: fechada ou com poucos olhos redondos e semelhante aos do prato.

2. Forma e peso

2.1. Formato:

Siciliano: paralelepípedo;

Fontina: cilíndrico.

2.2. Peso:

Siciliano: 1,8 a 2 kg;

Fontina: 0,9 a 1,0 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Retirar a parte não comestível da amostra e triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TANDIL

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, elástica;

1.2. Cor: branco amarelado, uniforme;

1.3. Crosta: lisa, consistente, bem formada, sem rachaduras nem trincas, ou sem crosta;

1.4. Odor: característicos, pouco acentuado;

1.5. Sabor: láctico, suave, ligeiramente salgado, característico;

1.6. Textura: compacta, lisa não granulosa, podendo apresentar algumas aberturas mecânicas, e alguns olhos pequenos, bem distribuídos.

2. Forma e peso

2.1. Formato: paralelepípedo de secção transversal, quadrado ou retangular;

2.2. Peso: 1 a 4kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TILSIT

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, elástica;

1.2. Cor: branco amarelado, uniforme;

1.3. Crosta: não possui;

1.4. Odor: característico, pouco acentuado;

1.5. Sabor: láctico, suave, ligeiramente salgado, característico;

1.6. Textura: compacta, lisa, não granulosa ou com alguns olhos pequenos, bem distribuídos.

2. Forma e peso

2.1. Formato: paralelepípedo de seção transversal retangular;

2.2. Peso: 2 a 4 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

QUEIJO TYBO

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: semi-dura, elástica;

1.2. Cor: branco amarelado, uniforme;

1.3. Crosta: lisa, consistente, bem formada, sem rachaduras, nem trincas ou sem crosta;

1.4. Odor: característico, pouco acentuado;

1.5. Sabor: láctico suave, ligeiramente salgado, característico;

1.6. Textura: compacta, lisa, não granulosa, podendo apresentar alguns olhos pequenos e bem disseminados.

2. Forma e peso

2.1. Formato: paralelepípedo de seção transversal retangular;

2.2. Peso: 3 a 5 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

REQUEIJÃO, REQUEIJÃO CREMOSO E REQUEIJÃO DE MANTEIGA (REQUEIJÃO DO NORTE)

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: untável ou fatiável;

1.2. Cor: característica;

1.3. Odor: característico;

1.4. Sabor: à creme levemente ácido, opcionalmente salgado para o requeijão ou requeijão cremoso, levemente ácido, salgado a ranço para o requeijão de manteiga ou do norte;

1.6. Textura: cremosa, fina, lisa ou compacta.

2. Forma e peso

2.1. Formato: variável;

2.2. Peso: variável.

3. Preparo da amostra

Para requeijão da região norte, cortar porções da amostra de acordo com esquema apropriado contido no anexo I. Homogeneizar em gral, acondicionar em frasco de boca larga com tampa e conservar em geladeira. Para requeijão cremoso, homogeneizar a amostra.

RICOTA DEFUMADA

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: dura;

1.2. Cor: creme-parda e homogênea;

1.3. Crosta: rugosa de cor acastanhada;

1.4. Odor: característico, meio picante;

1.5. Sabor: característico, meio picante;

1.6. Textura: fechada.

2. Forma e peso

2.1. Formato: cilíndrico;

2.2. Peso: 0,3 a 1,0 kg.

3. Preparo da amostra Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em processador, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

RICOTA FRESCA

1. Características sensoriais

1.1. Consistência: mole, não pastosa e friável;

1.2. Cor: branca ou branco-creme;

1.3. Crosta: rugosa não formada ou pouco nítida;

1.4. Odor: característico;

1.5. Sabor: característico;

1.6. Textura: fechada ou com alguns buracos mecânicos.

2. Forma e peso

2.1. Formato: cilíndrico;

2.2. Peso: 0,3 a 1,0 kg.

3. Preparo da amostra

Cortar várias porções da amostra de acordo com o esquema apropriado contido no anexo I. Triturar em gral, homogeneizar e acondicionar em frasco de boca larga com tampa. Conservar em geladeira.

SORO DE LEITE EM PÓ

1. Características sensoriais

1.1. Aspecto: pó;

1.2. Cor: amarelada;

1.3. Odor: característico;

1.4. Sabor: característico.

2. Preparo da amostra

O soro é higroscópico, sendo recomendado homogeneizar rapidamente a amostra. Passar quantidade suficiente para frasco de boca larga e fechar hermeticamente.

BIBLIOGRAFIA BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Divisão de Normas Técnicas. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, DF, 1997. Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29-03-52, alterado pelos Decretos nº 1.255 de 25-06-62, 1.236 de 02-09-94, nº 1.812 de 08-02-96 e nº 2.244 de 04-06-97.

BRASIL Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II.

BRASIL. Portaria nº 352 de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Minas Frescal. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19684.

BRASIL. Portaria nº 353, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Parmesão, Parmesano, Reggiano, Reggianito e Sbrinz. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19684-19685.

BRASIL. Portaria nº 354, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de Doce de Leite. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19685-19686.

BRASIL. Portaria nº 355, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo em Pó. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19686-19687.

BRASIL. Portaria nº 356, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo processado ou Fundido, processado Pasteurizado e processado ou Fundido U.H.T. (UAT). Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19687-19688.

BRASIL. Portaria nº 357, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Ralado. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19688-19690.

BRASIL. Portaria nº 358, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Prato. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19690.

BRASIL. Portaria nº 359, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do Requeijão ou Requesõn. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19690-19691.

BRASIL. Portaria nº 360, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Danbo. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19691-19692.

BRASIL. Portaria nº 361, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Tilsit. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19692-19693.

BRASIL. Portaria nº 362, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Tybo. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19693.

BRASIL. Portaria nº 363, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Pategrás Sandwich. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19693-19694.

BRASIL. Portaria nº 364, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarela). Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19694-19695.

BRASIL. Portaria nº 365, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Tandil. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19695.

BRASIL. Portaria nº 366, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de massa para elaborar queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarela). Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p. 19695.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamento Técnico de identidade e qualidade de queijos. In: _____. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Brasília, DF, 1996. p. 1-6.

BRASIL. Regulamento Técnico de identidade e qualidade de manteiga. In: _____. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Brasília, DF, 1996. p. 11-14.

BRASIL.. Regulamento Técnico de identidade e qualidade de creme de leite. In: _____. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Brasília, DF, 1996. p. 15-19.

BRASIL.Instrução Normativa nº30 de 26 de julho de 2001.

Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 julho. 2001. Seção 1, p. 14-15.

BRASIL.Instrução Normativa nº30 de 26 de julho de 2001.

Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de manteiga da terra ou manteiga de garrafa. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 julho. 2001. Seção 1, p.13-14.

BRASIL.Instrução Normativa nº30 de 26 de julho de 2001.

Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Manteiga.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 julho. 2001. Seção 1, p.15.

IV - MÉTODOS QUALITATIVOS

ÁCIDO BÓRICO E SEUS SAIS

1. Princípio

O glicerol ou manitol reage com ácido bórico formando um éster complexo do ácido ortobórico e o grupo hidroxila do glicol tornase fortemente ácido, descolorindo a fenolftaleína usada como indicador.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balão volumétrico de 250 mL;

Bastão de vidro;

Béquer de 250 mL; Funil;

Papel de filtro qualitativo;

Pipetas graduadas de 2 e 10 mL;

Tubo de ensaio.

2.3. Reagentes:

Glicerol neutralizado ($C_3H_8O_3$) ou manitol ($C_6H_{14}O_6$) p.a.;

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

Solução de ferrocianeto de potássio ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) a 15% (m/v);

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N;

Solução de sulfato de zinco heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) ou acetato de zinco dihidratado ($(CH_3COO)_2Zn \cdot 2H_2O$) a 30 % (m/v).

3. Procedimento

Em béquer de 250 mL colocar 10 mL de amostra fluída ou 2 g de amostra sólida ou pastosa. Adicionar 30 mL de água quente.

Deixar em banho-maria por 2 horas, agitando frequentemente. Com auxílio de um funil, transferir o conteúdo do béquer para balão volumétrico de 250 mL lavando o béquer e o funil com mais 70 mL de água quente. Esfriar, adicionar 2 mL de solução de sulfato ou acetato de zinco a 30 % e 2 mL solução de ferrocianeto de potássio a 15 %. Agitar por rotação após a adição de cada reagente. Completar o volume até 250 mL com água. Filtrar em papel de filtro. Em tubo de ensaio colocar 10 mL do filtrado obtido, adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% e gotejar solução de hidróxido de sódio 0,1 N até leve coloração rósea. Acrescentar 2 mL de glicerol neutralizado ou alguns cristais de manitol.

4. Resultado

Positivo: desaparecimento da coloração rósea.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluído. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p.7-8.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93.

Darmstadt, 1993. 1584 p.

ÁCIDO SÓRBICO/SORBATOS

1.Princípio

O ácido sórbico oxida-se à aldeído malônico formando um composto de condensação vermelha, resultante

da reação, em meio ácido de 2 moles de ácido 2-tiobarbitúrico e 1 mol de aldeído malônico.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer de 250 mL;

Proveta de 100 mL;

Pipetas volumétricas de 3, 5 e 10 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido 2-tiobarbitúrico (C₄H₄N₂O₂S) a 0,3 % (m/v):

dissolver 0,3 g de ácido 2-tiobarbitúrico p.a. em cerca de 90 mL de solução de ácido acético (CH₃COOH) a 90% (v/v), aquecer ligeiramente, resfriar em água corrente, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo ácido;

Solução sulfocrômica: pesar 1 g de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) p.a., acrescentar 50 mL de água e 10 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) p.a., dissolver, esfriar em água corrente, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água.

3. Procedimento

Pesar cerca de 5 g da amostra em béquer de 250 mL. Dissolver em 100 mL de água e acrescentar 3 mL da solução sulfocrômica. Levar à fervura. Adicionar 5 mL da solução de ácido 2-tiobarbitúrico a 0,3 % durante a fervura.

4. Resultado

Positivo: a formação de coloração vermelha ou rosada indica a presença de sorbato de potássio.

Negativo: na ausência de sorbato, a coloração inicial da solução (amarelo-pardacenta em amostras de doce de leite) não se altera.

BIBLIOGRAFIA

FAZIO, T Food additives: direct. In: HELRICH, K. (Ed.). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants. 15th ed.

Arlington: Association of official analytical chemists, 1990. v. 2, cap.

47, p.1156- 1157.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93.

Darmstadt, 1993. 1584 p.

ÁLCOOL/ALIZAROL

1. Princípio

Ocorrência de coagulação por efeito da elevada acidez ou do desequilíbrio salino, quando se promove desestabilização das micelas pelo álcool. O alizarol atua como indicador de pH, auxiliando a diferenciação entre o desequilíbrio salino e a acidez excessiva.

2. Material

2.1. Vidraria, utensílios e outros:

Tubo de ensaio.

2.2. Reagentes:

Solução de 1,2 dihidroxiantraquinona ($C_{14}H_8O_4$) a 0,2 % (m/v) em álcool etílico (C_2H_5OH) neutralizado de concentração variável entre 68 a 80 % (depende do tratamento térmico a ser aplicado ao leite e a vida de prateleira que se pretende obter do produto a ser elaborado).

Estas concentrações de alizarina ou do álcool etílico neutralizado, podem variar de acordo com especificações da legislação sanitária ou o interesse da indústria.

Neutralização do álcool etílico (C_2H_5OH): transferir o volume de álcool etílico desejado para um béquer. Adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$) (m/v) a 1 %. Agitar lentamente com um bastão de vidro. Não ocorrendo alteração de cor, gotejar solução de hidróxido de sódio 1 N ou 0,1 N até leve coloração rosada.

Agitar lentamente com o bastão. Desaparecendo a cor, continuar com a adição de solução de hidróxido de sódio 0,1 N até leve coloração rósea persistente.

3. Procedimento

Misturar partes iguais da solução de alizarol e de leite fluído em um tubo de ensaio, agitar e observar a coloração e o aspecto (formação de grumos, flocos ou coágulos grandes).

4. Resultado

Leite com resposta normal (boa resistência): coloração vermelho tijolo. Aspecto das paredes do tubo de ensaio sem grumos ou com uma ligeira precipitação, com poucos grumos muito finos.

Leite ácido: tendência a um esmaecimento da cor, passando para uma tonalidade entre o marron claro e amarelo. Na acidez elevada ou no colostro, a coloração é amarela, com coagulação forte.

Leite com reação alcalina (mamites, presença de neutralizantes):

coloração lilás a violeta.

BIBLIOGRAFIA

ALDRICH. Handbook of fine chemicals and laboratory equipment:

2001. [S. l.] p. 44. BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluído. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 22.

ÁLCOOL ETÍLICO

1. Princípio

Na presença de álcool etílico em meio ácido ocorre a redução do cromo+6 a cromo+3, modificando a coloração da solução sulfocrômica.

2. Material

2.1. Equipamento:

Bico de Bunsen ou placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Kitazato de 500 mL;

Pipeta graduada de 10 mL;

Pipeta de Pasteur;

Proveta de 100 mL;

Rolha de borracha, para vedação da abertura superior do kitazato;

Tubo de ensaio 20 x 200 mm;

Tubo de silicone ou látex de 25 cm;

2.3. Reagentes:

Antiespumante (solução a 3 %);

Solução sulfocrômica: dissolver 1,15 g de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) p.a. em 10 mL de água, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido sulfúrico (H_2SO_4) p.a.

3. Procedimento

Medir 100 mL da amostra e transferir para o kitazato. Adicionar 10 mL de antiespumante e misturar bem. Transferir para um tubo de ensaio 2 mL da solução sulfocrômica e mergulhar nessa solução a extremidade da pipeta de Pasteur acoplado ao kitazato por um tubo de silicone ou látex, de modo a formar um sistema fechado. Aquecer a amostra contida no kitazato mantendo em fervura por 5 minutos.

4. Resultado

Negativo: coloração da solução sulfocrômica inalterada ou levemente amarelo-acinzentada.

Positivo: coloração da solução sulfocrômica verde.

Interferente: formaldeído.

BIBLIOGRAFIA

ALEXEIEV, V.N. Semi-microanálisis químico qualitativo. [S.l: s.n.] [197-]

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93.

Darmstadt, 1993. 1584 p.

AMIDO

1. Princípio

O amido com o iodo forma um composto de adsorção de coloração azul.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Bico de Bunsen;

Placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer de 200 mL;

Pipetas graduadas de 1 e 10 mL;

Proveta de 50 mL;

Tubo de ensaio de 25 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de Lugol.

3. Procedimento

Adicionar às amostras preparadas conforme os itens 3.1 e 3.2,

2 gotas de solução de Lugol e observar a coloração produzida.

3.1. Leite fluído e leite em pó:

Transferir 10 mL de leite fluído ou de leite em pó reconstituído para tubo de ensaio, aquecer até ebulição em banho-maria e deixar por 5 minutos. Esfriar em água corrente.

3.2. Leite fermentado, doce de leite, leite condensado e queijo:

Pesar 10 gramas da amostra homogeneizada em béquer de 200 mL, adicionar 50 mL de água e misturar. Aquecer em placa aquecedora até fervura e deixar por 5 minutos. Esfriar em água corrente.

4. Resultado

Positivo: coloração azul.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II - Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981. Cap.14,p.15: Leite fluído; Cap. 15,p.7: Leite

em pó e soro de leite em pó; Cap.16,p.4: Leite condensado e doce de leite; Cap.19, p.1: Leite fermentado; Cap.17, p.6: Queijos.

CLORETOS

1. Princípio

Fundamenta-se na reação do nitrato de prata com os cloretos em presença de cromato de potássio como indicador.

2. Material

2.1. Vidraria, utensílios e outros:

Pipetas graduadas de 1, 5 e 10 mL;

Tubo de ensaio de 20 x 200 mm.

2.2. Reagentes:

Solução de cromato de potássio (K_2CrO_4) a 5 % (m/v);

Solução de nitrato de prata ($AgNO_3$) 0,1 N.

3. Procedimento

Em tubo de ensaio colocar 10 mL de leite, adicionar 0,5 mL de solução de cromato de potássio a 5 % e 4,5 mL de solução de nitrato de prata 0,1 N e agitar.

4. Resultado

Positivo: coloração amarela.

Observação: O resultado positivo de coloração amarela indica a presença de cloretos em quantidades superiores à faixa normal (0,08 a 0,1 %).

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p.11.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

COLORO E HIPOCLORITO

1. Princípio

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

2. Material

2.1. Equipamento:

Banho-maria.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Pipetas graduadas de 1 e 5 mL;

Tubo de ensaio de 20 x 200 mm.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido acético (CH_3COOH) (1+2) ou solução de ácido clorídrico (HCl) (1+2) ;

Solução de amido ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$)_n a 1 % (m/v);

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

3. Procedimento

Em tubo de ensaio, colocar 5 mL de leite e adicionar 0,5 mL de solução de iodeto de potássio a 7,5 %, agitar. Na presença de cloro livre aparecerá coloração amarela (se necessário, confirmar pela adição de 1 mL de solução de amido a 1 %, que desenvolverá coloração azul violeta). Se não houver mudança de coloração, pesquisar a presença de hipocloritos adicionando ao mesmo tubo 4 mL de solução de ácido acético ou ácido clorídrico (1+2) e colocar em banho-maria a 80 °C por 10 minutos (não ultrapassar 80 °C). Esfriar em água corrente. O aparecimento de coloração amarela indica a presença de hipocloritos (confirmar, se necessário, pela adição de gotas de solução de amido a 1 %, que desenvolverá coloração azul ou violeta).

4. Resultado

Positivo: coloração amarela

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p. 10-11. MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93.

Darmstadt, 1993. 1584 p.

DICROMATO DE POTÁSSIO

1. Princípio

O dicromato de potássio reage com nitrato de prata, formando o dicromato de prata de coloração vermelho tijolo.

2. Material

2.1. Vidraria, utensílios e outros:

Pipetas graduadas de 2 e 5 mL;

Tubo de ensaio de 25 mL.

2.2. Reagentes:

Solução de nitrato de prata (AgNO_3) a 2 % (m/v);

Solução de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) a 0,5 % (m/v).

3. Procedimento

Em tubo de ensaio, colocar 5 mL de leite, adicionar 2 mL de solução de nitrato de prata a 2 %. Para fazer uma prova positiva simultaneamente, colocar 5 mL de leite em um tubo de ensaio, adicionar 0,5 mL de solução de dicromato de potássio a 0,5 % e 2 mL de solução de nitrato de prata a 2 %.

4. Resultado

Positivo: coloração vermelho tijolo.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p. 9-10.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93.

Darmstadt, 1993. 1584 p. DIACETIL

Método A: Teste de Voges-Proskauer

1. Princípio

O diacetil em solução aquosa reage com a creatinina, em meio alcalino, produzindo um composto de condensação de coloração vermelha.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Agitador de tubos de ensaio;

Balança analítica;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer de 150 mL;

Pipetas graduadas de 1 e 2 mL;

Tubo de ensaio de 25 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de creatinina ($\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$) a 0,5 % (m/v);

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 33 % (m/v).

3. Procedimento

Homogeneizar a amostra de manteiga e transferir cerca de 100 g da amostra para béquer de 150 mL, fundir em estufa a 50 °C. Deixar separar as camadas. Colocar em tubo de ensaio 2 mL da fase aquosa da manteiga e adicionar 2 mL de solução de hidróxido de sódio a 33 % e 1 mL de solução de creatinina a 0,5 %. Agitar em agitador de tubo e esperar 10 minutos.

4. Resultado

Positivo: desenvolve-se uma coloração rósea a vermelho, conforme a quantidade de diacetil presente.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Manteiga. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 21, p. 10.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93.

Darmstadt, 1993. 1584 p.

FERVURA

1. Princípio

Quando a acidez é elevada, há precipitação das proteínas do leite pelo aquecimento.

2. Material

2.1. Equipamento:

Bico de Bunsen.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Garra metálica;

Pinça para tubo de ensaio;

Tubo de ensaio.

3. Procedimento

Aquecer até a fervura, em tubo de ensaio, pequena quantidade de leite agitando constantemente. Observar se o leite coagula.

4. Resultado

Positivo: formação de grumos.

BIBLIOGRAFIA BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 20-21.

FOSFATASE ALCALINA

1. Princípio

A verificação da atividade enzimática é feita mediante a adição à amostra do substrato específico da enzima em condições ideais para sua atuação. A presença do indicador permite identificar a atividade enzimática pela reação colorimétrica com os produtos de degradação.

2. Material

2.1. Equipamento:

Banho-maria.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Pipeta graduada de 5 mL;

Rolha de borracha;

Tubo de ensaio.

2.3. Reagentes:

Catalisador: dissolver 0,2 g de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) p.a. em 100 mL de água.

Solução reagente: pesar 0,150 g de 2,6-dicloroquinona cloroimida ($\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_3\text{NO}$) p.a., dissolver em 50 mL de álcool etílico p.a., transferir para frasco âmbar e estocar em geladeira. A coloração da solução recentemente preparada é amarelo-citrina, passando a amareloouro e tendendo a escurecer, adquirindo tons amarronzados com o envelhecimento.

Recomenda-se usar a solução por um período máximo de duas semanas, desde que conservada sob refrigeração e ao abrigo da luz.

Substrato: pesar 0,5 g de fenilfosfato dissódico dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_2\text{O}_4\text{P} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) p.a. em um béquer, dissolver com o tampão diluído, transferir para balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com o tampão diluído. Recomenda-se usar esta solução durante um período máximo de duas semanas.

Tampão carbonato: pesar 46,89 g de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) p.a. e 37,17 g de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) p.a., dissolver e levar ao volume de 1000 mL (solução estoque). Retirar uma alíquota de 25 mL da solução estoque, transferir para balão volumétrico de 500 mL e completar o volume. O pH deste tampão diluído deverá situar-se entre 9,5 e 9,7.

3. Procedimento

Transferir 0,5 mL da amostra a analisar para um tubo de ensaio, adicionar 5 mL do substrato, tampar com rolha de borracha, agitar ligeiramente e levar ao banho-maria mantido a 39 - 41 °C durante 20 minutos. Esfriar o tubo de ensaio em água corrente, adicionar 6 gotas de solução reagente e 2 gotas do catalisador. Levar o tubo novamente ao banho-maria a 39 - 41 °C por 5 minutos. Repetir o mesmo procedimento acima descrito, usando, em lugar da amostra e em diferentes tubos, 0,5 mL de leite cru e 0,5 mL de leite fervido.

4. Resultado

Positivo: coloração azul intensa - leite cru.

Negativo: coloração cinza - leite pasteurizado.

Observação: A tonalidade do azul vai ficando tanto mais intensa, quanto maior for a deficiência de pasteurização.

Os tubos de ensaio e as rolhas de borracha devem encontrar-se perfeitamente limpos e sem qualquer vestígio de detergentes, em decorrência do processo de lavagem do material. As rolhas de borracha, em particular, deverão ser fervidas durante 5 minutos depois de lavadas, visando eliminar quaisquer resíduos de fenol eventualmente presente em detergente ou outro material de limpeza.

As provas positivas devem ser repetidas cuidadosamente, principalmente se forem usados reagentes com algum tempo de preparo.

A amostra deverá sofrer cuidadosa agitação antes de ser analisada, visando distribuir a gordura ou a camada de creme pelo líquido.

A retirada de uma alíquota da amostra a partir da sua camada superior poderá levar a resultado positivo ou suspeito, ainda que o leite tenha sido adequadamente pasteurizado. A fosfatase alcalina encontra-se adsorvida aos glóbulos de gordura.

A fosfatase alcalina poderá sofrer reativação após algum tempo de pasteurização do leite. Não é comum encontrar esse tipo de interferência, mas o analista deverá ter em conta a vida de prateleira do produto ao ser analisado, principalmente se o teste for conduzido depois de 24 horas de o leite ter sido processado.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p.18-19.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93.

Darmstadt, 1993. 1584 p.

RICHARDSON, G.H. Dairy products. In: HELRICH, K. (Ed.) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants. 15th ed.

Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, cap 33, p. 823-824.

FORMALDEÍDO

1. Princípio

O formaldeído aquecido com ácido cromotrópico em presença de ácido sulfúrico, origina um produto de condensação que oxidado posteriormente transforma-se em um composto p-quinoidal de coloração violeta.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Banho-maria;

Bico de Bunsen ou placa aquecedora.

2.2. Vidrarias, utensílios e outros:

Balão de Kjeldahl de 500 mL;

Condensador de Liebig;

Erlenmeyer de 125 mL;

Pipeta graduada de 5 mL;

Provetas de 25 e 200 mL;

Tubo de ensaio de 25 mL.

2.3. Reagentes:

Ácido fosfórico (H₃PO₄) p.a.;

Solução de ácido cromotrópico sal dissódico dihidratado (C₁₀H₆Na₂O₈S₂.2 H₂O) a 0,5 % (m/v) em solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 72 % (v/v);

Solução referência de formalina: solução de formaldeído (CH₂O) a 37 % na diluição de 1:100.000 (v/v).

3. Procedimento Medir 100 mL de leite homogeneizado e passar para balão de destilação juntamente com 100 a 150 mL de água. Acidificar com 2 mL de ácido fosfórico p.a. Destilar lentamente recolhendo cerca de 50 mL de destilado. Em tubo de ensaio colocar 5 mL de solução de ácido cromotrópico a 0,5 % e 1 mL de destilado. Colocar em banho-maria durante 15 minutos.

4. Resultado

Positivo: coloração violácea

Para obter um testemunho da prova positiva fazer um teste com a solução de referência.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap 14,p.8.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93.

Darmstadt, 1993. 1584 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.Salsicharia In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap 2,p. 22-23,

GELATINA

1. Princípio

Baseia-se nas características da formação de um precipitado da gelatina com ácido pícrico.

2. Material

2.1. Equipamento:

Balança analítica.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béqueres de 50 e 100 mL;

Funil;

Papel de filtro qualitativo;

Pipetas volumétricas de 5, 10 e 20 mL;

Tubos de ensaio 20 x 200 mm.

2.3. Reagentes:

Solução ácida de nitrato de mercúrio ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$) 0,265 N:

mercúrio (Hg) dissolvido em duas vezes o seu peso em ácido nítrico, e essa solução diluída 25 vezes o seu volume com água, ou solução de nitrato de mercúrio II monohidratado $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,1 N;

Solução saturada de ácido pícrico ($\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_7$).

3. Procedimento

Leite fluído e leite fermentado: transferir 10 mL ou 10 g de amostra para um béquer de 100 mL. Adicionar 10 mL de solução de nitrato de mercúrio e misturar. Adicionar 20 mL de água e misturar novamente. Deixar em repouso por 5 minutos e filtrar para béquer de 50 mL. Transferir 5 mL do filtrado obtido para tubo de ensaio e adicionar igual volume de solução saturada de ácido pícrico. Fazer em paralelo uma prova em branco para comparação final. Observar os tubos no momento e tornar a observá-los no dia seguinte. Opcionalmente, a solução ácida de nitrato de mercúrio 0,265 N poderá ser substituída por uma solução de nitrato de mercúrio II 0,1 N. Neste caso, aos 10 mL ou 10 g da amostra adicionar 25 mL da solução de nitrato de mercúrio II 0,1 N e misturar. Adicionar 5 mL de água e misturar novamente. Deixar em repouso por 5 minutos e filtrar para béquer de 50 mL. A partir deste ponto, seguir o procedimento já descrito.

4. Resultado

Positivo: formação de um precipitado amarelo, de partículas finamente divididas que sedimentam lentamente. Após uma noite em repouso o depósito viscoso estará aderido no fundo e nas paredes laterais do tubo, de tal forma que, agitando e vertendo o tubo com enxague simples não se desprenderá.

Negativo: formação de um precipitado amarelo floculento, com produção de um soro praticamente límpido. Esse precipitado não adere às paredes do tubo e é facilmente removível com água, mesmo após uma noite de repouso.

Prova em branco: filtrado levemente turvo. Após repouso, o depósito se desprenderá facilmente do fundo do tubo por simples agitação.

BIBLIOGRAFIA

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1999/2000. Darmstadt, 1440 p.

RICHARDSON,G.H. Dairy products. In: HELRICH, K.

(Ed.) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants.

15th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, cap 33, p. 820.

NEUTRALIZANTES DA ACIDEZ Método A: Ácido Rosólico

1. Princípio

A presença de alcalinizantes na amostra é revelada pela ação do ácido rosólico usado como indicador.

2. Material

2.1. Vidraria, utensílios e outros:

Pipetas graduadas de 5 e 10 mL;

Tubo de ensaio.

2.2. Reagentes:

Álcool etílico (C₆H₅OH) p.a. neutralizado;

Solução de ácido rosólico (C₁₉H₁₄O₃) a 2 % (m/v) em álcool etílico neutralizado.

3. Procedimento

Em tubo de ensaio, colocar 5 mL de leite e adicionar 10 mL de álcool etílico neutralizado, agitar e adicionar 2 gotas de solução de ácido rosólico a 2 %. Fazer um branco com álcool etílico e solução de ácido rosólico a 2 % e comparar as cores.

4. Resultado

Positivo: coloração vermelho-carmim

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p. 12-13.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

SIGMA. Biochemicals and reagentes: for life science resarch 2000/2001. [S.l.], p. 880.

NEUTRALIZANTES DA ACIDEZ

Método B: Fenolftaleína

1. Princípio

Os alcalinizantes são revelados pela ação da fenolftaleína após uma neutralização com hidróxido de sódio e reacidificação com ácido sulfúrico.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Banho-maria;

Placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bureta de 10 mL;

Béquer de 150 mL;

Pipetas volumétricas de 1, 2 e 11 mL.

2.3. Reagentes:

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v);

Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,025 N;

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N.

3. Procedimento

Transferir 11 mL da amostra para béquer de 150 mL, adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração rósea persistente.

Reacidificar com 1 mL de solução de ácido sulfúrico 0,025 N, aquecer até ebulição, esfriar rapidamente em banho de gelo e adicionar 2 mL de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 %.

4. Resultado

Positivo: coloração rósea, neutralização com carbonato de sódio (Na₂CO₃) ou com bicarbonato de sódio (NaHCO₃).

BIBLIOGRAFIA

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ROSELL, J.M.; GOMEZ, J. Investigación de conservadores em la leche. In _____. Manual de analisis lactologicos y fabricacion de quesos e mantecas. La Coruna: Trofos, 1960. cap.12, p.149-150.

PEROXIDASE

1. Princípio

A peroxidase, ao hidrolisar o peróxido de hidrogênio, libera oxigênio, o qual transformará o guaiacol da sua leucobase para a forma corada.

2. Material

2.1. Equipamento:

Banho-maria.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Pipetas de 2 e 10 mL;

Tubo de ensaio.

2.3. Reagentes:

Solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3 % (v/v);

Solução hidroalcoólica de guaiacol (C₇H₈O₂) a 1 % (v/v): em béquer de 50 mL, colocar 1 mL de guaiacol, adicionar 10 mL de álcool etílico p.a. e agitar para dissolver. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Guardar em frasco âmbar.

3. Procedimento

Transferir 10 mL da amostra para um tubo de ensaio, aquecer em banho-maria a 45 oC por 5 minutos, para ativação da enzima.

Acrescentar 2 mL da solução hidroalcoólica de guaiacol a 1 % ao tubo de ensaio, pelas suas paredes, seguindo-se a adição de 3 gotas da solução de peróxido de hidrogênio a 3 %.

4. Resultado Positivo: desenvolvimento de um alo de coloração salmão.

Observação: Aguardar no mínimo 5 minutos para observar o resultado.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 16 -17.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO Método A: Óxido de Vanádio

1. Princípio

O óxido de vanádio em meio ácido reage com o peróxido de hidrogênio formando o ácido ortoperoxivanádico de coloração vermelha.

2. Material

2.1. Vidraria, utensílios e outros:

Pipeta graduada de 10 mL;

Tubo de ensaio.

2.2. Reagente:

Solução de óxido de vanádio (V₂O₅) a 1 % (m/v) em solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 6 % (v/v).

3. Procedimento

Colocar 10 mL da amostra e 6 gotas da solução de óxido de vanádio a 1 % em um tubo de ensaio. Agitar.

4. Resultado

Positivo: coloração rósea ou vermelha.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 8-9.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

Método B: Guaiacol

1. Princípio

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

2. Material

2.1. Equipamento:

Banho-maria.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Pipetas graduadas de 5 e 10 mL;

Tubo de ensaio.

2.3. Reagente:

Solução hidroalcoólica de guaiacol (C₇H₈O₂) a 1 % (v/v): em béquer de 50 mL colocar 1 mL de guaiacol, adicionar 10 mL de álcool etílico p.a., e agitar para dissolver. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Guardar em frasco âmbar.

3. Procedimento

Transferir 10 mL da amostra para tubo de ensaio e aquecer em banho-maria até 35 °C, adicionar 2 mL da solução hidroalcoólica de guaiacol a 1 % e 2 mL de leite cru. Agitar.

4. Resultado

Positivo: desenvolvimento de coloração salmão.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p. 9.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PUS

1. Princípio

A solução hidroalcoólica de fucsina de Ziehl provoca o aparecimento de filamento ou grumos quando em presença de pus, em amostras levemente alcalinizadas.

2. Material

2.1. Vidraria, utensílios e outros:

Lâmina de microscópio;

Pipeta graduada de 1 mL.

2.2. Reagentes:

Hidróxido de amônio (NH₄OH) p.a.;

Solução fucsina de Ziehl: solução de fucsina básica (C₁₉H₁₉N₃O) p.a. a 1 % (m/v) em solução hidroalcoólica a 50 %.

3. Procedimento

Colocar em uma lâmina 0,1 mL de leite in natura e 0,1 mL de hidróxido de amônio. Misturar e deixar em repouso por 30 segundos. Colocar 1 gota da solução fucsina de Ziehl e lavar lentamente com água corrente. Agitar levemente.

4. Resultado

Positivo: formação de filamentos, grumos, ou véu avermelhado, que não se desfazem com leve agitação.

BIBLIOGRAFIA BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p. 21.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juíz de Fora, MG, v. 39, n. 236, p. 13-17, 1984.

SANGUE

1. Princípio

Fundamenta-se na separação das hemácias por centrifugação.

2. Material

2.1. Equipamento:

Centrífuga.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Pipeta graduada de 10 mL;

Tubo de centrífuga.

3. Procedimento

Colocar 10 mL de leite in natura em tubo de centrífuga e centrifugar a 1200 - 1500 rpm por 5 minutos.

4. Resultado

Em presença de sangue forma-se um depósito avermelhado no fundo do tubo.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 21.

V - MÉTODOS QUANTITATIVOS

ACIDEZ TITULÁVEL DE CREME DE LEITE, DOCE DE LEITE E LEITE CONDENSADO

1. Princípio

Consiste na titulação de determinada massa da amostra por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador fenolftaleína.

2. Material

2.1. Equipamento:

Balança analítica.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Béquer de 150 mL;

Bureta de 10 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N;

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v).

3. Procedimento

Adicionar a amostra previamente preparada conforme (3.1. e 3.2.) 10 gotas de solução de fenolftaleína a 1 % e titular com a solução de hidróxido de sódio 0,1 N até aparecimento de coloração rósea persistente por

aproximadamente 30 segundos.

3.1. Creme de leite: pesar 10 g de amostra, adicionar 50 mL de água isenta de gás carbônico (CO₂) e homogeneizar;

3.2. Doce de leite e leite condensado: Pesar 5 g de amostra, adicionar 50 mL de água morna (50 °C) e homogeneizar.

4. Cálculos

% de ácido láctico = $V \times f \times 0,9 \text{ m}$

Onde:

V = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

m = massa da amostra, em gramas.

Observação: Para expressar o resultado em graus Dornic, multiplicar a % de ácido láctico por 100.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Creme. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 18, p. 2.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ACIDEZ TITULÁVEL DE LEITE DESIDRATADO

Método A

1. Princípio

Consiste na titulação potenciométrica até pH 8,4 de determinada massa de amostra reconstituída correspondente a 10 g de sólidos não gordurosos (SNG), com solução alcalina de concentração conhecida.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

pH-metro.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Barra magnética;

Bureta de 10 mL;

Erlenmeyer de 125 mL com tampa esmerilhada;

Proveta de 50 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N; Nitrogênio (N₂).

3. Procedimento

Conhecendo previamente os teores de gordura e umidade, obtidos através de metodologia apropriada, somar ambos os valores e subtraí-los de 100. Dividir 500 pelo resultado da subtração mencionada acima. Exemplo: 26 % de gordura + 2,5 % de umidade = 28,5\100 - 28,5 = 71,5\500 71,5 = 6,993. Pesar a alíquota da amostra sob análise diretamente no erlenmeyer, efetuando os cálculos necessários para determinar o seu valor, conforme exemplo acima. Reconstituir a amostra mediante adição de 50 mL de água a 20 oC e agitação vigorosa com barra magnética. Deixar em repouso por cerca de 20 minutos, introduzir a ponta da bureta e parte do tubo de nitrogênio no interior do erlenmeyer. De modo similar, mergulhar o bulbo do eletrodo na solução, mantendo-o junto ou próximo à parede do frasco, visando preservá-lo de dano pelo uso da barra magnética.

Deverão ser tomados cuidados para evitar a possibilidade de que o gotejamento da solução de hidróxido de sódio 0,1 N possa ser retido parcialmente pelo material introduzido no frasco, não entrando em contato com o leite reconstituído. Titular o conteúdo do frasco pela adição de solução de hidróxido de sódio 0,1 N até que o pH atinja e persista por aproximadamente 5 segundos no valor de 8,4. Durante a titulação, a amostra deverá permanecer sob agitação através de barra magnética, evitando-se a absorção de gás carbônico mediante a injeção de um fluxo de nitrogênio no interior do erlenmeyer. A duração da titulação não deverá exceder a 1 minuto.

4. Cálculos

Acidez titulável, em mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 N/10 g de SNG = $2 \times V \times f$

Onde:

V = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 86:1981 :dried milk:determination of titratable acidity (reference method 2 f.)

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos

1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ACIDEZ TITULÁVEL DE LEITE DESIDRATADO

Método B

1. Princípio

Consiste na titulação de determinada massa da amostra reconstituída, correspondente a 10 g de sólidos não gordurosos (SNG) por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador a fenolftaleína.

2. Material

2.1. Equipamento:

Balança analítica.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Barra magnética;

Buretas graduadas de 0,1 e 10 mL;

Erlenmeyer de 125 mL;

Pipeta volumétrica de 2 mL;

Proveta de 50 mL.

2.3. Reagentes:

Solução hidroalcoólica de fenolftaleína a 2 %: pesar 2 g de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) p.a., dissolver em 75 mL de álcool etílico (C₂H₅OH) p.a. e acrescentar 20 mL de água. Gotejar solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N até coloração levemente rósea, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água;

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N;

Solução referência de cor: solução de sulfato de cobalto heptahidratado (CoSO₄.7H₂O) a 3 % (m/v).

3. Procedimento

Conhecendo previamente os teores de gordura e umidade, obtidos através de metodologia apropriada, somar ambos os valores e subtraí-los de 100. Dividir 500 pelo resultado da subtração mencionada acima. Exemplo: 26 % de gordura + 2,5 % de umidade = 28,5\100 - 28,5 = 71,5\500 71,5 = 6,993. Pesar a alíquota da amostra sob análise diretamente no erlenmeyer, efetuando os cálculos necessários para determinar o seu valor, conforme exemplo acima. Reconstituir em duplicata a amostra com 50 mL de água, agitar vigorosamente e deixar em repouso por 20 minutos. Adicionar a um dos erlenmeyer 2 mL da solução de referência de cor e agitar ligeiramente, de modo a obter um padrão de cor, o qual poderá ser usado por um período de 2 horas. Adicionar 2 mL da solução hidroalcoólica de fenolftaleína a 2 % ao outro erlenmeyer, misturando com ligeira agitação. Titular o conteúdo do segundo erlenmeyer, sob agitação, com a solução de hidróxido de sódio 0,1 N até o surgimento de uma coloração rósea persistente. A titulação deverá ser concluída em 45 segundos.

4. Cálculos

Acidez Titulável, mL de NaOH 0,1N/10g de SNG = $2 \times V \times f$

Onde:

V = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N.

Observação: A diferença entre resultados de duas determinações conduzidas em rápida sucessão pelo

mesmo analista não deve exceder 0,4 mL de NaOH 0,1N/10 g de SNG.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 81:1981: dried milk determination of titratable acidity (routine method) MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ACIDEZ TITULÁVEL DE LEITE DESIDRATADO

Método C

1. Princípio

Consiste na titulação de determinada massa da amostra reconstituída, por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador a fenolftaleína.

2. Material

2.1. Equipamento:

Balança analítica.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer de 250 mL;

Bureta de 10 mL;

Proveta de 50 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N;

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v).

3. Procedimento

Pesar exatamente cerca de 5 g de leite em pó e diluir em 35 mL de água para leite integral, ou 50 mL de água para leite desnatado.

Adicionar 10 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 %. Titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até aparecimento de coloração rósea, tênue e persistente.

4. Cálculos

% de ácido láctico no leite em pó = $V \times f \times 0,9 \text{ m}$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,9 = fator de conversão para ácido láctico;

m = massa da amostra, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de

Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite em pó e soro de leite em pó. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap.15, p. 4-5.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ACIDEZ TITULÁVEL DE LEITE FERMENTADO

1. Princípio

Consiste na titulação de determinada massa de amostra por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador a fenolftaleína, azul de timol ou titulando-se até pH 8,3.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

pHmetro.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer de 50 mL;

Bureta de 25 mL;

Pipeta graduada de 10 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N;

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1% (m/v);

Solução de azul de timol sal sódico (C₂₇H₂₉NaO₅S) a 1% (m/v).

3. Procedimento

Pesar exatamente cerca de 10 g da amostra em béquer de 50 mL, adicionar 10 mL de água isenta de gás carbônico e misturar.

Adicionar 4 a 5 gotas do indicador. Titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N sob agitação, até ponto final detectável pelo aparecimento de coloração rósea (fenolftaleína) persistente por aproximadamente 30 segundos ou coloração azul (azul de timol) ou pH 8,3.

4. Cálculos

% de ácido láctico = $V \times f \times 0,9 \text{ m}$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,9 = fator de conversão para ácido láctico;

m = massa da amostra, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

FEDERATION INTERNATIONALE DE LAITERIE.

150:1991: yaourt: determination de l'acidité titrable (methode potentiometrique).

Bruxelles, 1991.1 f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos

1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ACIDEZ TITULÁVEL DE LEITE FLUÍDO

Método A

1. Princípio

Consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador a fenolftaleína.

2. Material

2.1. Vidraria, utensílios e outros:

Bureta de 25 mL;

Erlenmeyer de 125 mL;

Pipeta graduada de 1 mL;

Pipeta volumétrica de 20 mL;

Proveta de 50 mL.

2.2. Reagentes:

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 N;

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v);

Padrão de coloração: dissolver 0,12 g de rosanilina (fucsina C.I. 42510) (C₂₀H₂₀ClN₃) p.a. em 50 mL de álcool etílico (C₂H₅OH) p.a. contendo 0,5 mL de ácido acético (CH₃COOH) p.a., completar o volume para 100 mL com álcool etílico p.a..Adicionar 0,3 mL dessa solução a 20 mL de amostra diluída com 40 mL de água. Homogeneizar a solução e adotar a coloração como referência para o término da titulação.

3. Procedimento

Transferir 20 mL da amostra para um erlenmeyer de 125 mL e diluir com 40 mL de água livres de gás carbônico. Adicionar 2 mL de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até a primeira coloração rosa forte persistente por aproximadamente 30 segundos.

4. Cálculos

Acidez titulável, % de ác.lático (m/v) = $V \times f \times 0,09 \times N \times 100 \div v$

Onde:

V = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

v = volume da amostra, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1N;

0,09 = fator de conversão do ácido láctico;

N = normalidade de solução de hidróxido de sódio 0,1 N.

BIBLIOGRAFIA

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

RICHARDSON, G.H. Dairy products. In: HELRICH, K. (Ed.) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants.

15th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, cap. 33, p. 805.

CIDEZ TITULÁVEL DE LEITE FLUÍDO

Método B

1. Princípio

Consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador a fenolftaleína.

2. Material

2.1. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer de 100 mL;

Bureta de 10 ou 25 mL ou acidímetro de Dornic;

Pipeta volumétrica de 10 mL.

2.2. Reagentes:

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N ou solução Dornic (0,11 N ou N/9);

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v);

Padrão de coloração para acidez titulável: dissolver 0,12 g de rosanilina (fucsina C.I. 42510) (C₂₀H₂₀ClN₃) p.a. em 50 mL de álcool etílico (C₂H₅OH) p.a. contendo 0,5 mL de ácido acético (CH₃COOH) p.a., completar o volume para 100 mL com álcool etílico p.a. (solução estoque). Diluir 1

mL dessa solução para 500 mL com uma mistura de álcool etílico p.a. e água em iguais proporções por volume (solução de trabalho). Ambas as soluções devem ser estocadas em local escuro, em garrafas âmbar tampadas com rolhas de borracha. Adicionar 1 mL da solução de trabalho a 10 mL da amostra a ser titulada, agitar bem e adotar a coloração obtida como referência para o término da titulação.

3. Procedimento

Transferir 10 mL da amostra para o béquer e adicionar 4 - 5 gotas da solução de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N ou com a solução Dornic, até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos.

4. Cálculos

4.1. Usando solução de hidróxido de sódio 0,1 N:

Acidez (°Dornic) = $V \times f \times 0,9 \times 10$ Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,9 = fator de conversão do ácido láctico;

10 = transformação de ácido láctico para grau Dornic.

4.2. Usando Solução Dornic:

1 mL de NaOH 0,1 N = 0,0090 g de ácido láctico

Acidez (°Dornic) = $V \times f \times 10$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,11 N ou N/9.

10 = transformação de ácido láctico para grau Dornic.

BIBLIOGRAFIA

ATHERTON, H.V.; NEWLANDER, J.A. Acidity of milk and its products. In: _____. Chemistry and testing of dairy products. 4th ed.

Westport:AVI. 1977p.246-253.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 1.

DAVIS, J. G. Food Industries Manual, 1970.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ACIDEZ TITULÁVEL DA MANTEIGA

1. Princípio

Consiste na titulação de determinada massa de gordura filtrada, dissolvida em solvente apropriado por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador fenolftaleína.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Estufa ou banho-maria.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béqueres de 100 e 250 mL;

Bureta de 25 mL;

Funil;

Papel de filtro qualitativo;

Proveta de 50 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de álcool etílico (C_2H_5OH) e éter etílico ($C_4H_{10}O$) (1+2) neutralizada;

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

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N.

3. Procedimento

Fundir uma determinada quantidade da amostra em estufa a 40 - 50 °C em béquer. Deixar que ocorra a separação de fase e filtrar a fase lipídica em papel de filtro, recebendo em outro béquer. Pesar uma alíquota de aproximadamente 5 g da gordura filtrada, em béquer de 250 mL, acrescentar cerca de 40 mL de solução álcool etílico e éter etílico (1+2) neutralizada. Adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, até leve coloração rósea, persistente por 15 a 20 segundos.

4. Cálculos

Solução alcalina normal (SAN) % = $V \times f \times N \times 100 m$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio 0,1N;

m = massa da gordura, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Manteiga. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 21, p., p. 4-5.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Salsicharia In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap 2, p. 29.

WOOLLEN,H.(Ed). Food Industries Manual, 20 th ed.New Iork1:Chemical Publishing, {1970?} .

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ACIDEZ TITULÁVEL DE QUEIJO

1. Princípio

Os ácidos graxos livres solúveis são extraídos com água a 40 °C e neutralizados até o ponto de equivalência, com solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador fenolftaleína.

2. Material

2.1. Equipamento:

Balança analítica.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balão volumétrico de 100 mL;

Béquer de 150 mL;

Bureta de 25 mL;

Funil;

Pipeta volumétrica de 50 mL.

2.3. Reagentes:

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v);

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N.

3. Procedimento

Transferir 10 g da amostra para um béquer de 150 mL, acrescentar cerca de 50 mL de água morna isenta de gás carbônico (CO₂) (40 °C) e agitar com bastão de vidro até dissolução possível.

Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL, esfriar em água corrente e completar o volume. Transferir uma alíquota de 50 mL para um béquer de 150 mL, acrescentar 10 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até leve coloração rósea

persistente por aproximadamente 30 segundos.

4. Cálculos

% em ácido láctico = $V \times f \times 0,9 \text{ m}$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,9 = fator de conversão do ácido láctico;

m = massa da amostra na alíquota, em gramas.

BILIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Queijos. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 17, p. 5.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ÁCIDO SIÁLICO LIVRE E LIGADO À GLICOPROTEÍNA DO LEITE

1. Princípio

Identificar o ácido siálico (N-acetilneuramínico) que é um componente natural do leite, particularmente ligado à k-caseína, procedente de leite autêntico e de leite fraudado com soro proveniente da fabricação de queijos. O ácido siálico é encontrado no soro proveniente da coagulação enzimática do leite por estar ligado ao caseinomacropeptídeo que é liberado da k-caseína.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Banho-maria;

Bico de Bunsen;

Centrífuga;

Espectrofotômetro.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Béquer de 50 mL e 100 mL;

Cubetas de quartzo de 1 cm de aresta;

Funil de vidro;

Papel de filtro qualitativo;

Pipetas automáticas de 0,1, 0,5 e 1,0 mL;

Pipetas graduadas de 5 e 10 mL;

Tubos de centrífuga;

Tubos de ensaio.

2.3. Reagentes:

Ácido acético (CH_3COOH) glacial;

Ácido Siálico ($\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_9$) p.a.;

Álcool etílico a 95%;

Solução de ácido fosfotúngstico ($\text{H}_3[\text{P}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4] \cdot x\text{H}_2\text{O}$) a 20 % (m/v);

Solução de ácido tricloroacético ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$) a 24 % (v/v);

Solução de ninidrina ácida: dissolver 1g de ninidrina ($\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$) p.a. em 16 mL de ácido clorídrico p.a. e 24 mL de ácido acético (CH_3COOH) glacial.

3. Procedimento

Adicionar sob agitação, 10 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) a 24 % em 10 mL de leite, misturar e deixar em repouso por 30 minutos. Filtrar e transferir 10 mL do filtrado para tubo de centrífuga, adicionar 1 mL de solução de ácido fosfotúngstico a 20 %, centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos (ou 2.000 gravidades).

Descartar cuidadosamente o sobrenadante e adicionar 4 mL de álcool etílico a 95 %, dispersar o sedimento com bastão de vidro. Lavar o bastão com 2 mL de álcool etílico a 95 %. Centrifugar novamente a 3500 rpm por 10 minutos, descartar o sobrenadante e adicionar 2 mL de ácido acético glacial e 1 mL da solução de ninidrina ácida. Misturar e levar ao banho-maria por exatamente 10 minutos para desenvolvimento de cor, que deverá variar do amarelo claro ao marrom amarelado. Esfriar até temperatura ambiente em banho de gelo. Fazer a leitura da absorbância a 470 nm, utilizando-se a curva padrão previamente elaborada com ácido siálico.

4. Cálculos

Preparo da curva padrão de ácido siálico:

Preparar uma solução estoque contendo 294 mg de ácido siálico/mL. Diluir até uma solução de trabalho contendo 98 mg de ácido siálico/mL, de onde deverão ser tomadas 10 alíquotas em duplicata, sendo a inicial de 0,001 mL e a final de 1 mL, representando concentrações variando de 9,8 a 98 mg de ácido siálico. Completar os volumes das alíquotas até um total de 1 mL com água. Acrescentar a cada tubo 1 mL de ácido acético glacial e 1 mL de solução de ninidrina ácida. Transferir os tubos para banho-maria durante 10 minutos.

Esfriar até temperatura ambiente em banho de gelo. Realizar leitura em espectrofotômetro a 470 nm. Construir a curva.

Relacionar a leitura da absorbância da amostra com a curva padrão de ácido siálico, e expressar o

resultado em mg de ácido siálico/mL da amostra.

Observação: O método descrito é sensível a pequenas adições de soro proveniente da fabricação de queijos (acima de 2 %). As amostras de leite autêntico apresentaram teor médio de $2,71 \pm 0,83$ mg/mL de ácido siálico. Amostras de soro de queijo obtido de processos industriais exibiram um teor médio de ácido siálico de $42,35 \pm 6,60$ mg/mL.

BIBLIOGRAFIA

FUKUDA, S.P.; ROIG, S.M.; PRATA, L.F. Metodologia analítica para determinação espectrofotométrica de ácido siálico em leite.

In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS. 12, 1994, Juiz de Fora - MG. Anais... Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes/ Centro de Pesquisa e Ensino, 1994. p. 114-120.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ÁCIDO SÓRBICO E SEUS SAIS

1. Princípio

O ácido sórbico oxida-se a aldeído malônico formando um composto de condensação de coloração vermelha, resultante da reação em meio ácido de dois moles de ácido 2-tiobarbitúrico e um mol de aldeído malônico.

2. Material

2.1 Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria com agitação;

Bico de Bunsen ou chapa aquecedora;

Espectrofotômetro;

Sistema de destilação por arraste de vapor.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Pipetas graduadas de 5, 10 e 15 mL;

Balão volumétrico de 250 e 500 mL;

Pérolas de vidro;

Tubo de destilação.

2.3. Reagentes:

Sulfato de magnésio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7 H_2O$) p.a.;

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 2 N;

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,3 N;

Solução de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) a 0,147 % (m/v);

Solução de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) a 0,5 % (m/v):

dissolver 250 mg de ácido 2-tiobarbitúrico (C₄H₄N₂O₂S) p.a. em 5 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,5 N em balão volumétrico de 50 mL, sob agitação em banho-maria a 60 - 70 oC.

Adicionar cerca de 20 mL de água, neutralizar com 3 mL de solução de ácido clorídrico (HCl) 1 N e completar o volume com água. Esse reagente deve ser preparado no dia da análise.

Solução padrão de ácido sórbico 0,1 mg/mL: pesar 134 mg de sorbato de potássio (C₆H₇KO₂) p.a. (equivalente a 100 mg de ácido sórbico) e diluir a 1 litro com água. Essa solução é estável por várias dias quando refrigerada.

3. Procedimento

Pesar exatamente cerca de 2,0 g de amostra e transferir para tubo de destilação contendo pérolas de vidro. Adicionar 10 mL de solução de ácido sulfúrico 2 N e 10 g de sulfato de magnésio heptahidratado.

Destilar por arraste de vapor, mantendo um volume de aproximadamente 20 a 30 mL de água de condensação no interior do tubo de destilação. A destilação deve ser conduzida de forma cuidadosa para evitar carbonização da amostra. Recolher cerca de 125 mL de destilado em balão volumétrico de 250 mL em aproximadamente 45 minutos. Lavar o condensador com água, diluir o destilado até o volume de 250 mL e misturar. Se a amostra contiver ácido sórbico acima de 0,05 %, diluir a solução até concentração equivalente. Pipetar 4 mL de cada solução e 4 mL de água (branco) para tubos de ensaio. Adicionar 2 mL de solução de ácido sulfúrico 0,3 N e 2 mL da solução de dicromato de potássio a 0,147 %, aquecer em banho-maria por exatamente 5 minutos. Imergir os tubos em béquer com água fria e adicionar 4 mL da solução de ácido 2

tiobarbitúrico a 0,5 %. Retornar os tubos para banho-maria e deixar por mais 10 minutos. Resfriar e determinar a absorvância de cada solução a 532 nm contra branco, usando cubetas de 1 cm de comprimento.

4. Cálculos

Determinar a concentração de ácido sórbico da curva padrão e calcular a % de ácido sórbico.

Preparar curva padrão:

Imediatamente antes do uso, pipetar 5, 10 e 15 mL da solução padrão de ácido sórbico em diferentes balões volumétricos de 500 mL, completar o volume e misturar. Pipetar 4 mL de cada solução e 4 mL de água (branco) para tubos de ensaio. Adicionar 2 mL de solução de ácido sulfúrico 0,3 N e 2 mL da solução de dicromato de potássio a 0,147 %, aquecer em banho-maria por exatamente 5 minutos. Imergir os tubos em béquer com água fria e adicionar 4 mL da solução de ácido 2-tiobarbitúrico a 0,5 %. Retornar os tubos para banho-maria e deixar por mais 10 minutos. Resfriar e determinar a absorvância de cada solução a 532 nm contra branco, usando cubetas de 1 cm de comprimento. Construir a curva.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Salsicharia. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 2, p. 20-22.

CUNNIFF, P. (Ed.). Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. rev. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists, 1999. 1 CD-ROM.

ALCALINIDADE DAS CINZAS

1. Princípio

A presença de substâncias alcalinas adicionadas ao leite e derivados faz aumentar a alcalinidade das cinzas, que é determinada por via indireta, fazendo-se reagir as cinzas com uma quantidade conhecida de solução ácida padronizada e titulando-se o excesso deste com uma solução alcalina de concentração conhecida.

2. Material 2.1. Equipamentos:

Bico de Bunsen;

Placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Béquer de 400 mL;

Bureta de 50 mL;

Proveta de 50 mL;

Vidro de relógio.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 N;

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N;

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v);

Solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) a 40 % (m/v) neutralizada com solução de ácido clorídrico 0,1 N e filtrada.

3. Procedimento

Transferir quantitativamente as cinzas, obtidas na metodologia de resíduo mineral fixo, para béquer de 400 mL, usando pequenas porções de água destilada até 75 mL. Adicionar aos poucos 50 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 N, e se necessário triturar as cinzas com um bastão de vidro e transferir eventuais restos da amostra, juntamente com o ácido para um béquer de 400 mL. Lavar com água destilada o bastão e o cadinho. Cobrir o béquer com um vidro de relógio e levar à ebulição moderada por 5 minutos, esfriar e lavar o vidro de relógio. Adicionar 30 mL de solução de cloreto de cálcio a 40 %. Deixar em repouso por 10 minutos e adicionar 10 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular o excesso de ácido clorídrico com solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 N. A titulação deve ser bastante rápida até ser obtida turvação e coloração rósea persistente.

4. Cálculos

Alcalinidade das cinzas, em % NaCO₃ = $V \times N \times f \times 0,053 \times 100 m$

Onde:

V = diferença entre os volumes da solução de ácido clorídrico 0,1 N adicionado e da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,053 = miliequivalente-grama do carbonato de sódio;

m = massa da amostra, em gramas.

Observação: Valores normais para leite fluído: entre 0,015 % e 0,030 %. Valores superiores, sobretudo acima de 0,040 %, caracterizam adição de substâncias alcalinas.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluído. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 13-14.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

RICHARDSON, G.H. Dairy products. In: HELRICH, K.

(Ed.) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants.

15th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, cap 33, p. 835.

CÁLCIO

1. Princípio

O cálcio se precipita como oxalato a pH 4,0, para impedir interferências de íons fosfatos. O oxalato de cálcio é dissolvido em ácido sulfúrico e o ácido oxálico que se libera é titulado com permanganato de potássio.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Forno mufla;

Placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balão volumétrico de 200 mL;

Bastão de vidro de aproximadamente 25 cm de comprimento;

Béqueres de forma alta de 300 e 400 mL;

Cadinho de Gooch de 50 mL ou cadinho de vidro sinterizado de 50 mL;

Cadinho de forma alta de 100 mL;

Conta-gotas;

Fibra de amianto;

Funil;

Microbureta de 5,0 mL;

Papel de filtro qualitativo;

Pipetas volumétricas;

Provetas de 25 e 50 mL;

Vidro de relógio.

2.3. Reagentes:

Solução alcoólica de vermelho de metila ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) a 0,1 % (m/v);

Solução de ácido clorídrico (HCl) (1 + 1) ;

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) (1 + 1) ;

Solução de hidróxido de amônio (NH_4OH) (1 + 1) ;

Solução de hidróxido de amônio (NH_4OH) (1 + 50) ;

Solução de permanganato de potássio ($KMnO_4$) 0,05 N;

Solução saturada de oxalato de amônio: pesar 140 g de oxalato de amônio ($(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$) p.a. e transferir para béquer de 2.000 mL. Acrescentar água até a marca de 2.000 mL, aquecer até completa dissolução e esfriar em temperatura ambiente. Caso não haja deposição de cristais após o esfriamento, aumentar a massa do sal (1 g de oxalato de amônio dissolve-se em 20 mL de água fria ou em 2,6 mL de água fervente);

Preparo do elemento filtrante com fibra média de amianto:

passar cuidadosamente cerca de 5 g de fibra de amianto para um frasco plástico de 500 mL, evitando aspirar fragmentos de fibra.

Encher o frasco com água, tampar e agitar. Colocar um cadinho de Gooch num kitazato acoplado a linha de vácuo, verter cerca de 30 a 40 mL do conteúdo do frasco sobre o cadinho e abrir a linha de vácuo. Pressionar, com um bastão de vidro, o depósito de fibra de amianto formado no fundo do cadinho e adicionar uma outra quantidade do conteúdo do frasco plástico, repetindo a aspiração. Verificar a ocorrência de completa vedação do cadinho contra uma fonte de luz. Ao final dos procedimentos analíticos, completar o volume de água do frasco plástico. Repor a fibra de amianto somente quando a vedação não estiver sendo adequada.

3. Procedimento

Pesar exatamente entre 5 e 10 g da amostra de leite fluído ou quantidade adequada de outros produtos em cadinho. Carbonizar em placa aquecedora (pode ser conveniente secar inicialmente em fluxo de vapor) e levar à mufla a 550 - 600 oC até obtenção de cinzas brancas (3 horas no mínimo). Esfriar sobre a bancada até temperatura ambiente. Com auxílio de bastão de vidro e água destilada, transferir as cinzas para béquer de 300 mL de forma alta. Lavar o cadinho com pequenas porções de ácido clorídrico (1 + 1), totalizando 40 mL.

Lavar em seguida com mais algumas porções de água destilada completando o volume final de aproximadamente 100 mL. Cobrir com vidro de relógio e aquecer em placa aquecedora a 180 °C, até obter redução de 1/3 do volume inicial. Esfriar. Filtrar em papel de filtro qualitativo, recebendo o filtrado em balão volumétrico de 200 mL.

Lavar o papel de filtro com água, misturar o conteúdo do balão e completar o volume. Esse material constituirá a solução estoque, e será utilizado para a determinação de cálcio por oxidimetria e de fósforo por colorimetria. Pipetar volumetricamente uma alíquota adequada da solução estoque para béquer de 400 mL. Adicionar 2 a 3 gotas de solução alcoólica de vermelho de metila a 0,1 % e diluir com água até cerca de 50 mL. Aquecer brandamente em placa aquecedora até início de fervura. Acrescentar, sob agitação constante, 25 mL de solução saturada de oxalato de amônio a quente. Em seguida, adicionar solução de hidróxido de amônio (1 + 1) gota a gota até modificação da coloração avermelhada para amarelo - pálido. Deixar em repouso durante 1 hora. Filtrar lenta e cuidadosamente sob vácuo, usando cadinho de Gooch com elemento filtrante. Lavar o béquer e o cadinho de Gooch com cerca de 100 mL de solução de amônio (1 + 50), mantendo o cadinho acoplado ao sistema de vácuo. Evitar suspender o elemento filtrante na solução de lavagem durante a operação.

Transferir o cadinho de Gooch com o precipitado de oxalato de cálcio retido pelo filtro para o béquer original. Adicionar água até cobrir o cadinho, acrescentar 10 mL da solução de ácido sulfúrico (1 + 1) e aquecer em placa aquecedora até próximo à ebulição, para dissolver o precipitado. Nesse ponto, o material poderá ser reservado até o dia seguinte para continuar com a determinação, se necessário, sem que ocorram perdas. O ácido oxálico liberado a partir da hidrólise ácida do oxalato de cálcio deverá ser titulado com solução de permanganato de potássio 0,05 N sob constante agitação até que seja obtida coloração rósea clara persistente por 30 segundos, utilizando, para isso, um bastão de vidro que deverá ser inserido no interior do cadinho. Este deverá ser girado junto à parede do béquer, de maneira uniforme e constante. A temperatura do líquido no interior de béquer não deverá cair para valores abaixo de 75 oC.

4. Cálculos

$$\% \text{ cálcio} = V \times N \times f \times 0,02004 \times S \times 100 \text{ m} \times A$$

Onde:

V = volume da solução de permanganato de potássio 0,05 N gasto na titulação, em mL;

N = normalidade da solução de permanganato de potássio 0,05 N;

f = fator de correção da solução de permanganato de potássio 0,05 N;

S = volume total da solução estoque 200 mL;

m = massa da amostra, em gramas;

A = alíquota utilizada da solução estoque;

0,02004 = miliequivalente-grama do cálcio.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL (antiga ANFAR).; COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL. Métodos analíticos In _____. Compêndio brasileiro de alimentação animal. São Paulo: Sindirações-Anfal, 1998. p. 45-48.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos

1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PEARSON, D. Técnicas de laboratorio para el analisis de alimentos. Zaragoza: Acribia, 1976. p. 116-117.

CLORETOS

Método A: Potenciométrico

1. Princípio

Baseia-se na titulação potenciométrica dos íons cloretos em meio ácido com solução padrão de nitrato de prata.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Agitador magnético;

Balança analítica;

Misturador;

Potenciômetro.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer de 100 mL;

Bureta de 50 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido nítrico (HNO_3) 4 N;

Solução de nitrato de prata (AgNO_3) 0,1 N;

3. Procedimento

Pesar em béquer exatamente cerca de 2 a 5 g de amostra preparada. Adicionar 30 mL de água a 50 °C e homogeneizar com o misturador. Lavar o misturador com 10 mL de água coletando o lavado no béquer. Adicionar 2 a 3 mL da solução de ácido nítrico 4 N e colocar o eletrodo do potenciômetro na suspensão. Titular o conteúdo do béquer com a solução de nitrato de prata 0,1 N agitando continuamente até quase alcançar o ponto final. Em seguida, titular cuidadosamente até atingir o ponto final, que corresponde a máxima diferença de potencial observada entre duas idênticas adições sucessivas (aproximadamente 0,05 mL) da solução de nitrato de prata 0,1 N. Correr uma prova em branco.

4. Cálculos

$$\% \text{ NaCl} = (V1 - V0) \times N \times f \times 5,84 \text{ m}$$

Onde:

V0 = volume da solução de nitrato de prata 0,1 N gasto na titulação do branco, em mL;

V1 = volume da solução de nitrato de prata 0,1 N gasto na titulação da amostra, em mL;

N = normalidade da solução de nitrato de prata 0,1 N;

f = fator de correção da solução de nitrato de prata 0,1 N;

m = massa da amostra, em gramas;

5,84 = fator de expressão usado para percentual de NaCl.

BIBLIOGRAFIA:

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION: 88A:1988: cheese and processed cheese products:determination of choride content(potentiometric titration method)). Bruxelles,1988.2f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

CLORETOS

Método B: Argentométrico

1. Princípio

Os cloretos são precipitados sob a forma de cloreto de prata, em pH levemente alcalino em presença do cromato de potássio usado como indicador. O final da titulação é visualizado pela formação do precipitado vermelho tijolo de cromato de prata.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria ou estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer ou copo de alumínio de 250 mL;

Bureta de 25 mL;

Erlenmeyer de 125 mL;

Pipetas graduada de 1 e 5 mL;

Pipetador tipo papagaio com capacidade de 15 mL;

Proveta de 50 mL.

2.3. Reagentes:

Éter de petróleo p.a.;

n-hexano (C₆H₁₄) p.a.;

Solução de cromato de potássio (K₂CrO₄) a 5 % (m/v);

Solução de nitrato de prata (AgNO₃) 0,1 N.

3. Procedimento

Partindo do obtido nos itens 3.1.e 3.2., transferir o resíduo para erlenmeyer de 125 mL, utilizando cerca de 50 mL de água morna, adicionar 1 mL de solução de cromato de potássio a 5 % e titular com solução de nitrato de prata 0,1 N, até coloração vermelho tijolo.

3.1. Manteiga: pesar exatamente cerca de 5 g da amostra em béquer ou copo de alumínio de 250 mL. Fundir a amostra em estufa, ou banho-maria, a 45 oC. Esfriar o béquer e adicionar 3 ou mais porções de aproximadamente 15 mL de n-hexano ou éter de petróleo, agitando após cada adição e transferindo o sobrenadante cuidadosamente para outro frasco, sem carrear o resíduo. Secar rapidamente o resíduo em estufa, ou banho-maria a 45 oC.

3.2. Queijos, requeijão e outros produtos lácteos: utilizar o resíduo obtido na metodologia resíduo mineral fixo.

4. Cálculos

$$\% \text{ NaCl} = V \times f \times N \times 0,0585 \times 100 m$$

Onde:

V = volume da solução de nitrato de prata 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de nitrato de prata 0,1 N;

m = massa da amostra, em gramas;

N = normalidade da solução de nitrato de prata 0,1 N;

0,0585 = miliequivalente-grama do cloreto de sódio.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Salsicharia. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 2, p. 15-16.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

DENSIDADE A 15OC

1. Princípio

A imersão de um densímetro de massa constante no líquido provocará deslocamento de uma quantidade deste, que será, em massa, igual à do densímetro utilizado e, em volume, proporcional à densidade da amostra. Esse deslocamento fará o líquido alcançar um valor na escala graduada em graus densitométricos.

2. Material

2.1. Vidrarias, utensílios e outros:

Proveta de 500 mL ou de 1000 mL;

Papel toalha absorvente;

Termolactodensímetro.

3. Procedimento

Transferir cerca de 500 mL (ou cerca de 1000 mL) de leite para uma proveta de capacidade correspondente, evitando incorporação de ar e formação de espuma. Introduzir o termolactodensímetro perfeitamente limpo e seco na amostra, deixar flutuar sem que encoste na parede da proveta. Observar a densidade aproximada, erguer cuidadosamente o termolactodensímetro e enxugar sua haste com papel absorvente, retornando o aparelho à posição anteriormente observada.

Deixar em repouso por 1 a 2 minutos e fazer a leitura da densidade na cúspide do menisco. Observar a temperatura sempre que possível, fazer a leitura da densidade a 15°C. Pode-se fazer a correção para 15°C acrescentando à leitura 0,0002 para cada grau acima de 15°C ou subtraindo 0,0002 para cada grau abaixo. De qualquer forma não deverão ser feitas leituras de densidade em amostras com temperatura inferior a 10oC ou superior a 20oC.

Observação: Calibração do termolactodensímetro: dessecar cloreto de sódio (NaCl) p.a. em forno mufla a 300 °C por 2 horas ou em estufa a 105 °C por 24 horas. Pesar rápida e exatamente 44 g de cloreto de sódio. Dissolver e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume com água destilada. Esta solução deverá apresentar a densidade de 1,030 g/mL a 20 °C. Introduzir o termolactodensímetro na solução a 20 °C e calcular a correção.

$$C = D - L$$

Onde:

C = fator de correção;

D = densidade da solução preparada (1,030) L = leitura no termolactodensímetro.

O fator de correção deverá ser adicionado ao valor da leitura da densidade da amostra de leite previamente a correção da densidade para 15 °C.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite fluido. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 2.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

SILVA, P.H.F. Controle interno de qualidade. In: CURSO SOBRE CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE DOS LABORATÓRIOS DE LATICÍNIOS. [Juiz de Fora]: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 1992. Parte I. Ministrado na XXXIII Semana do Laticinista, 1992).

DEPRESSÃO DO PONTO DE CONGELAMENTO

1. Princípio

O super congelamento de uma amostra de leite a uma temperatura apropriada e aplicação de uma agitação mecânica ocasiona um rápido aumento da temperatura até um patamar o qual corresponde ao ponto de congelamento da amostra.

2. Material

2.1. Equipamento:

Crioscópio eletrônico.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Pipeta graduada de 5 mL;

Tubo de vidro.

2.3. Reagentes:

Soluções de cloreto de sódio (NaCl) a 0,6859 % (m/v) (

0,422 °H) ou (-0,408 °C) e a 1,0155 % (m/v) (-0,621 °H) ou (-0,600 °C): secar o cloreto de sódio p.a em forno mufla a 300 °C por 5 horas ou em estufa a 130 °C por 24 horas, esfriar em dessecador e pesar, exata e rapidamente 6,859 g e 10,155 g do sal. Dissolver e transferir para balões de 1000 mL, completando o volume com água fervida e resfriada a 20 °C. Estocar as soluções em frasco plástico rígido, com tampa interna de pressão e externa rosqueável. Conservar em geladeira.

3. Procedimento

Seguir atentamente as instruções do fabricante do aparelho, especialmente no que se referir ao banho de refrigeração, o agitador e o procedimento de calibração com as soluções padrões -0,422 °H e -0,621 °H ou as recomendadas pelo fabricante. Realizar calibração com os padrões na mesma temperatura das amostras. De modo geral o volume recomendado de solução de calibração e de amostra é de 2,5 mL para cada determinação. Efetuar três determinações para cada amostra em 3 tubos distintos. Os resultados dos testes devem ser próximos, com uma tolerância de mais ou menos 2 miligraus ($\pm 0,002$ °H). Após cada leitura, limpar cuidadosamente o sensor e o agitador com água e secar delicadamente com papel absorvente fino.

4. Cálculos

Uma vez obtida as três leituras, calcular a média aritmética.

Considerar apenas as leituras dentro dos limites de tolerância de mais ou menos 2 miligraus.

Equivalência entre as escalas Hortvet (°H) e Celsius(°C)

$$T(^{\circ}\text{C}) = 0,9656 \times T(^{\circ}\text{H})$$

$$T(^{\circ}\text{H}) = 1,0356 \times T(^{\circ}\text{C})$$

Observação: Uma solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,8646 % (-0,530 °H ou -0,512 °C) servirá para verificar a calibração do aparelho.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 108 B:1991:

milk: determination of freezing point (thermistor cryospe method).

Brussels, 1991. 3 f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

DISPERSIBILIDADE DO LEITE EM PÓ INSTANTÂNEO

1. Princípio

Uma porção da amostra, com teor de umidade conhecido, é uniformemente espalhada na superfície da água a 25 °C, a mistura é agitada manualmente por um curto período de tempo e parte da mistura é filtrada através de uma peneira, determinando-se o teor de sólidos totais do líquido recolhido após a filtração. A dispersibilidade é calculada a partir da massa da porção da amostra, bem como dos teores de umidade e de sólidos totais.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Balança semi-analítica;

Cronômetro.

2.2. Vidrarias, utensílios e outros:

Béquer (com bico) de 600 mL, diâmetro externo $90 + 2$ mm e altura média de $126 + 3$ mm, graduado a 150 e 250 mL, com a borda formando um plano horizontal paralelo ao da base;

Erlenmeyer com tampa de 250 mL;

Espátula com formato de colher;

Espátula de aço inoxidável com 1 mm de espessura, comprimento total de 250 mm, comprimento da lâmina de 135 mm e largura da lâmina de 25 mm;

Frasco com tampa que permita vedação hermética e com capacidade duas vezes superior ao volume da amostra;

Funil de vidro;

Papel toalha;

Peneira com diâmetro de 200 mm e malha metálica com abertura 150 mm com bandeja;

Pincel de pelos;

Placa de vidro com 120 x 120 mm de lado e 2,5 mm de espessura com bordas esmerilhadas;

Suporte para tubos de vidro com base metálica;

Termômetro;

Tubo de vidro com comprimento de 65 mm, diâmetro externo de $80 + 1,8$ mm, espessura da parede de 2,5

+ 0,3 mm, sem fundo, com extremidades esmerilhadas paralelas formando ângulos retos com eixo longitudinal.

3. Procedimento

Transferir cuidadosamente uma porção de leite em pó instantâneo para um frasco com tampa hermética e com capacidade 2 vezes superior ao volume da amostra. Misturar cuidadosa e totalmente a amostra por inversão e rotação do frasco. A amostra deverá permanecer a temperatura do laboratório por no mínimo 48 horas.

Paralelamente determinar o teor de sólidos totais da amostra. Pesar uma alíquota de $26 + 0,1$ g de leite em pó desnatado instantâneo ou $34 + 0,1$ g de leite em pó integral instantâneo. Conduzir o teste em duplicata. Pesar $250 + 0,1$ g de água a $25 + 1$ °C em um béquer de 600 mL, tendo o cuidado para que a parte interna do béquer acima do nível da água permaneça seca. Colocar o béquer na base do suporte do tubo de vidro. Colocar a placa de vidro centralizada sobre o béquer e instalar o tubo de vidro sobre a placa fixando-o com um gancho de tal forma que fique centralizado sobre o béquer e que deixe a placa de vidro livre o suficiente para ser retirada. Transferir a porção pesada da amostra para o tubo de vidro, usando a escova se necessário e distribuir a amostra uniformemente sobre a placa de vidro com a ajuda da espátula. Acionar o cronômetro e, após exatamente 1 minuto, retirar a placa de vidro com uma das mãos, segurando o béquer com a outra de modo que a amostra caia progressivamente sobre a superfície da água contida no béquer. A retirada da placa deve ser conduzida através de movimento contínuo e suave, sendo concluída dentro de aproximadamente 2,5 segundos.

Remover imediatamente o béquer de debaixo do tubo e, quando o ponteiro principal do cronômetro indicar 5 segundos, inserir a espátula no béquer até tocar o fundo. Durante os próximos 5 segundos, agitar o conteúdo do béquer com a espátula, fazendo um movimento completo por segundo, isto é, levando a espátula de um ponto ao outro diametralmente oposto e retornando à posição inicial. A extremidade da espátula deverá estar sempre tocando o fundo do béquer.

Inclinar ligeiramente a espátula ao final de cada metade do seu movimento completo, para minimizar o acúmulo de leite em pó não umedecido junto à parede do béquer. Sem interrupção, continuar a agitação por mais 15 segundos, da mesma maneira, deixando a espátula sempre na posição vertical. No mesmo tempo em que estiver sendo feito o movimento com a espátula, o béquer deverá ser girado aos poucos, de forma que, ao final dos 20 segundos de tempo total de agitação da amostra na água, o béquer desenvolva um giro de 360 °C.

Concluída a agitação, deixar o conteúdo do béquer em repouso por 30 segundos, ou seja, até que o ponteiro principal do cronômetro atinja 55 segundos. Em seguida, sem produzir qualquer distúrbio no sedimento, verter na peneira, da maneira mais uniforme possível, a camada superior do líquido até que este atinja a marca de 150 mL.

Debaixo da peneira estará adaptado o vasilhame receptor. O conjunto peneira/receptor não deverá ser inclinado ou movido durante a filtração.

Para facilitar a passagem do líquido durante a filtração, a peneira deverá ser umedecida com água antes do seu uso, retirandose o excesso de água com um papel toalha. As superfícies superior e inferior da malha metálica deverão ser apenas superficialmente enxutos, ao passo que o vasilhame receptor deverá permanecer limpo e seco antes do seu uso. Trinta segundos após o início da operação de filtração através da peneira, ou seja, quando o ponteiro principal do cronômetro tiver retornado à posição de 25 segundos, transferir, tão completamente quanto possível, o conteúdo do vasilhame receptor para um erlenmeyer por intermédio de um funil, fechando, a seguir, o erlenmeyer com sua tampa. Misturar completamente o líquido no frasco mediante repetidas inversões deste último. Determinar, neste material, o teor de sólidos totais, em duplicata, extraindo a média das duas determinações.

4. Cálculos

Calcular o valor de cada duplicata da determinação da dispersibilidade, em porcentagem, usando a

seguinte fórmula:

a) Leite em pó desnatado instantâneo:

$$D = \frac{S \times 962}{100} - (U+S)$$

b) Leite em pó integral instantâneo:

$$D = \frac{S \times 735}{100} - (U + S)$$

Onde:

D = % dispersibilidade;

S = % de sólidos totais do líquido obtido na filtração, (m/m);

U = % de umidade, (m/m).

A diferença entre valores obtidos em duplicata para a dispersibilidade não deverão exceder a 4 %.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 87:1979: determination of the dispersibility and wettability of instant dried milk.

Brussels, 1987. 4 f.

MERCK. Reativos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

EXTRATO SECO TOTAL E DESENGORDURADO Método A: Gravimétrico

1. Princípio

Consiste na perda da umidade e voláteis por dessecação e pesagem do resíduo assim obtido.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Cápsula com tampa (de aço inoxidável, alumínio ou níquel) com 20 a 25 mm de altura e 50 a 75 mm de diâmetro;

Dessecador; Pipeta graduada de 5 mL; Tenaz metálica.

3. Procedimento

Aquecer a cápsula e tampa em estufa a 102 ± 2 °C por no mínimo 1 hora. Colocar a tampa na cápsula, esfriar em dessecador até temperatura ambiente (no mínimo 30 minutos) e pesar. Pesar exatamente cerca de 5 g de leite fluído homogeneizado. Inclinare cápsula para espalhar a porção por igual no fundo.

Pré-aquecer a cápsula por 30 minutos em banho-maria. Aquecer a cápsula, com sua tampa ao lado, em estufa 102 + 2 °C por 2 horas. Colocar a tampa sobre a cápsula, esfriar em dessecador à temperatura ambiente (no mínimo 30 minutos) e pesar. Repetir a operação de aquecimento por 1 hora, esfriar e pesar. Repetir esta última operação até que a diferença entre as duas pesagens consecutivas não exceda a 1 mg.

Para a determinação da porcentagem de extrato seco desengordurado, determinar a porcentagem de gordura na amostra.

4. Resultados

4.1. % extrato seco total = $[(m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)] \times 100$ Onde:

m_0 = massa da cápsula e tampa, em gramas;

m_1 = massa da cápsula, tampa e amostra, em gramas;

m_2 = massa da cápsula, tampa e amostra seca, em gramas.

4.2. % extrato seco desengordurado = % extrato seco total - % gordura

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 21B:1987:

milk, cream and evaporated milk: determination of total solids content (reference method). Brussels, 1987. 2 f.

EXTRATO SECO TOTAL E DESENGORDURADO Método B: Disco de Ackermann

1. Princípio

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

2. Material

2.1. Equipamento:

Disco de Ackermann

3. Procedimento

3.1. Determinação do extrato seco total:

Fazer coincidir as graduações dos círculos interno e médio, correspondentes a densidade corrigida e a porcentagem de gordura. A posição da seta indicará no círculo externo a porcentagem de extrato seco total.

NOTA:

A porcentagem de extrato seco total poderá ser também calculada através das seguintes fórmulas:

Fórmula de Fleishmann:

$$\% \text{ extrato seco} = 1,2 G + 2,665 [(100 D - 100)/D]$$

Fórmula Prática:

$$\% \text{ extrato seco} = G/5 + D/4 + G + 0,26$$

Onde:

D = densidade;

G = % gordura.

3.2. Determinação do extrato seco desengordurado:

Obtem-se a porcentagem de extrato seco desengordurado, subtraindo da porcentagem de extrato seco total a porcentagem de gordura da amostra.

BIBLIOGRAFIA

BEHMER, M. A. Análises principais do leite. In: _____.

Laticínios. São Paulo: Melhoramentos. cap. 8, p. 99.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Leite fluido, In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap.14, p. 5-6.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Leites, creme de leite e coalho. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.

ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, cap.15, p. 205.

SILVA, P.H.F. Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos. Juiz de fora, MG: Oficina de Impressão Gráfica, 1997. Cap.2, p.30.

FÓSFORO

1. Princípio

Fundamenta-se na reação de Misson. A partir de uma reação em meio ácido, o ortofosfato presente reage com solução de vanadato e molibdato de amônio, formando um complexo estável de coloração amarela, que é medida colorimetricamente a 420 nm.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Espectrofotômetro;

Forno mufla;

Placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balões volumétricos de 100 e 200 mL;

Bastão de vidro;

Béquer de forma alta de 300 mL;

Bico de Bunsen;

Cadinho de porcelana de 60 mL;

Dessecador;

Funil;

Papel de filtro qualitativo;

Pipetas volumétricas de 5, 10 e 20 mL;

Pipetas graduadas de 5 e 10 mL;

Proveta de 50 mL;

Tubos de ensaio;

Vidro de relógio.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido clorídrico (HCl) (1+1) ;

Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 10 N;

Solução de metavanadato de amônio (NH₄VO₃) a 0,25 % (m/v); pesar 2,5 g de metavanadato de amônio p.a. e solubilizar em 500 mL de água fervente. Esfriar e adicionar lentamente, com agitação, 350 mL de ácido nítrico (HNO₃) p.a.. Esfriar, transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume e estocar em frasco âmbar.

Solução de molibdato de amônio tetrahidratado ((NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O) a 5 % (m/v); pesar 50 g de molibdato de amônio p.a. e dissolver em 500 mL de água quente (60 - 70° C).

Esfriar e transferir para balão volumétrico de 1000 mL. Completar e estocar em frasco âmbar.

Reagente misto: misturar 1 parte da solução de metavanadato de amônio a 0,25 % com 1 parte da solução de molibdato de amônio a 5 % e homogeneizar. Preparar momentos antes de utilizar.

3. Procedimento

Pesar a amostra em cadinho, conforme os itens 3.1. a 3.3., carbonizar em placa aquecedora ou bico de Bunsen (dependendo do tipo de amostra, secar inicialmente em fluxo de vapor) e levar ao forno mufla a 550 - 600 °C até obtenção de cinzas claras (3 horas no mínimo). Esfriar sobre a bancada até temperatura ambiente. Com auxílio de bastão de vidro e água, transferir as cinzas para béquer de 300 mL de forma alta, lavar o cadinho com pequenas porções de solução de ácido clorídrico (1+1), totalizando 40 mL. Lavar em seguida com mais algumas porções de água complementando o volume final de aproximadamente 100 mL. Cobrir com o vidro de relógio e aquecer em placa aquecedora a 180 °C até obter redução de 1/3 do volume inicial e esfriar. Filtrar em papel de filtro qualitativo recebendo o filtrado em balão volumétrico de 200 mL. Lavar o papel de filtro com água, misturar o conteúdo do balão e completar o volume.

Retirar uma alíquota de 20 mL para balão volumétrico de 100 mL com um pouco de água, adicionar 4 mL de solução de ácido sulfúrico 10 N e completar o volume com água. Em tubo de ensaio pipetar volumetricamente 10 mL da solução acima e adicionar 4 mL do reagente misto preparado recentemente.

Deixar em repouso por 20 minutos e fazer a leitura a 420 nm contra um branco.

3.1. Leite fluído

Pesar exatamente cerca de 5,0 g da amostra;

3.2. Creme de leite

Pesar exatamente cerca de 5 a 10 g da amostra;

3.3. Leite fermentado

Pesar exatamente cerca de 5 a 10 g da amostra.

4. Cálculos

$$\% P = A \times F \times 100 m$$

Onde:

A = absorvância da amostra;

F = fator de calibração da curva padrão;

m = massa da amostra na alíquota, em microgramas.

$$\% P_2O_5 = \% P \times 2,3$$

Onde:

2,3 = Fator de transformação do fósforo para óxido de fósforo V.

Preparo da curva padrão:

Fazer uma solução padrão com exatamente cerca de 0,4394 g de monofosfato de potássio (KH_2PO_4) previamente seco em estufa a 105 °C por 2 horas. Solubilizar e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar aproximadamente 500 mL de água e 100 mL de solução de ácido sulfúrico 10 N. Completar o volume. Cada mL desta solução contém 100 mg de fósforo. Fazer as diluições, construir a curva e calcular o fator de calibração.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Salsicharia. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 2, p. 33-35.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

GLICÍDIOS REDUTORES EM LACTOSE, GLICÍDIOS NÃO REDUTORES EM SACAROSE E AMIDO Método A: Lane-Eynon

1. Princípio

Fundamenta-se na redução dos íons cúpricos a íons cuprosos pelo açúcar redutor em meio alcalino, a quente.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Placa aquecedora;

Banho-maria.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balão volumétrico de 100 e 250 mL;

Béquer de 150 mL;

Bureta de 50 mL;

Condensador;

Erlenmeyer de 250 mL;

Funil;

Papel de filtro qualitativo;

Papel indicador de pH;

Pipetas volumétricas de 2, 5 e 10 mL.

2.3. Reagentes:

Ácido clorídrico (HCl) p.a.;

Álcool etílico (C₂H₅OH) p.a.;

Solução de azul de metileno (C₁₆H₁₈ClN₃.3H₂O) a 1 % (m/v);

Solução de ferrocianeto de potássio trihidratado (K₄[Fe(CN)₆].3H₂O) a 15 % (m/v);

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 40 % (m/v);

Solução de sulfato de zinco heptahidratado (ZnSO₄.7H₂O) ou solução de acetato de zinco dihidratado ((CH₃COO)₂Zn.2H₂O) a 30 % (m/v);

Solução de Fehling A: dissolver 34,65 g de sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O) p.a., transferir para um balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume;

Solução de Fehling B: dissolver 173 g de tartarato duplo de potássio e sódio (C₄H₄KNaO₆.4H₂O) p.a., em solução de hidróxido de sódio (NaOH) p.a. 125 g em 300 mL, completar o volume para 1000 mL e deixar em repouso por 24 horas.

Padronização da solução de Fehling: pesar exatamente 0,5 g de glicose (C₆H₁₂O₆) p.a., previamente seca em estufa a 70 °C, durante 1 hora. Transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Dissolver bem e completar o volume. A solução padrão de glicose para titular a solução de Fehling deve ser recentemente preparada. Colocar na bureta a solução padrão de glicose.

Transferir, com pipeta volumétrica, 10 mL de cada uma das soluções de fehling A e B para erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 40 mL de água e aquecer até ebulição. Gotejar a solução padrão, sem agitação até quase o final da titulação, mantendo a ebulição. Adicionar 1 gota de solução de azul de metileno a 1 % e completar a titulação até descolorimento do indicador. O tempo da titulação não deve ultrapassar a 3 minutos. O final da titulação será em torno de 10 mL da solução padrão de glicose.

O título da solução de Fehling será obtido pelo cálculo:

$$T = V \times m \times 100$$

Onde:

V = volume gasto de glicose na titulação, em mL;

m = massa da glicose, em gramas.

3. Procedimento

Glicídios redutores em lactose: adicionar às amostras preparadas conforme os itens 3.1. a 3.4., 5 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15 % e 5 mL de solução de sulfato ou acetato de zinco a 30 %. Agitar e completar o volume com água. Deixar sedimentar e filtrar em papel de filtro e receber o filtrado em erlenmeyer. Reservar o resíduo da filtração para análise de amido. Transferir o filtrado obtido para uma bureta de 50 mL. Pipetar volumetricamente para um erlenmeyer 5 mL da solução de Fehling A e 5 mL de solução de Fehling B. Adicionar 40 mL de água, aquecer até a ebulição e gotejar a solução da amostra, sem agitação, até que o líquido sobrenadante fique levemente azulado. Manter a ebulição e adicionar 1 gota de solução de azul de metileno a 1 % e continuar até descoloração do indicador.

Glicídios não redutores em sacarose: transferir 50 mL do filtrado obtido na determinação da lactose para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 2 mL de ácido clorídrico p.a. e levar ao banho-maria a 60 °C por 60 minutos. Esfriar, neutralizar com solução de hidróxido de sódio a 40 %, e se necessário adicionar 5 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15 % e 5 mL de solução de sulfato ou acetato de zinco a 30 %. Completar o volume para 100 mL. Filtrar e transferir o filtrado para bureta e proceder como na determinação da lactose.

Amido: Lavar no próprio funil o resíduo obtido na determinação de lactose, com porções de álcool etílico p.a. e deixar filtrar.

Levar o funil para outro erlenmeyer, romper o papel de filtro e transferir o resíduo com 100 mL de água. Adicionar 10 mL de ácido clorídrico p.a., o volume do ácido deve ser proporcional a quantidade de água utilizada para transferir o resíduo. Aquecer sob refluxo em banho-maria durante 2 horas no mínimo, ou em autoclave a 120 °C por 20 minutos. Esfriar e neutralizar com solução de hidróxido de sódio a 40 %, usando papel indicador de pH. Transferir para balão volumétrico de 250 mL lavando o erlenmeyer e o papel de filtro.

Adicionar 5 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15 % e 5 mL de solução de acetato ou sulfato de zinco a 30 %, agitar e completar o volume. Filtrar para erlenmeyer e transferir o filtrado obtido para bureta de 50 mL. Pipetar volumetricamente para um erlenmeyer 5 mL da solução de Fehling A e 5 mL de solução de Fehling B. Adicionar 40 mL de água, aquecer até a ebulição e gotejar a solução da amostra, sem agitação, até que o líquido sobrenadante fique levemente azulado. Manter a ebulição e adicionar 1 gota de solução de azul de metileno a 1 % e continuar até descoloração do indicador.

3.1. Leite fluído: pipetar 10 mL da amostra para balão de 250 mL;

3.2. Leite desidratado (leite em pó integral ou desnatado, soro em pó, leite em pó modificado e similares): pesar em balança analítica exatamente cerca de 5 g da amostra em béquer de 150 mL ou diretamente num

balão volumétrico de 250 mL, com auxílio de um funil, e dissolver em cerca de 50 mL de água. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL, quando a pesagem e dissolução tiver sido feita em béquer;

3.3. Doce de leite: pesar cerca de 5 g da amostra, dissolver em cerca de 50 mL de água e transferir para balão volumétrico de 250 mL;

3.4. Leite fermentado: pesar cerca de 10 g da amostra diretamente em balão volumétrico de 250 mL.

4. Cálculos

% de glicídios redutores em glicose = $100 \times 250 \times (T/2) \times V \times m$

% de glicídios redutores em lactose = $100 \times 250 \times (T/2) \times 1,39$

$V \times m$

Onde:

T = título da solução de Fehling;

V = volume de amostra gasto na titulação, em mL;

m = massa da amostra em gramas;

1,39 = fator de conversão da glicose para lactose.

% de glicídios totais em glicose = $100 \times 100 \times (T/2) \times V1 \times m1$

Onde:

T = título da solução de Fehling;

V1 = volume de amostra gasto na titulação, em mL;

m1 = massa da amostra em gramas, na alíquota.

% glicídios não redutores em sacarose = (% glicídios totais em glicose - % glicídios redutores em glicose) x 0,95 Onde:

0,95 = fator de conversão da glicose para sacarose. % amido = $100 \times 250 \times (T/2) \times 0,90 \times V \times m$

Onde:

T = título da solução de Fehling;

V = volume de amostra gasto na titulação, em mL;

m = massa da amostra em gramas;

0,90 = fator de conversão da glicose para amido.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Salsicharia. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 2, p. 9-15.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

GLICÍDIOS REDUTORES EM LACTOSE E GLICÍDIOS NÃO REDUTORES EM SACAROSE

Método B: Cloramina-T

1. Princípio

Fundamenta-se na quantidade de iodo liberada por uma amostra adicionada de cloramina-T e iodeto de potássio.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Agitador magnético;

Balança analítica;

Banho-maria.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balão volumétrico de 50 e 100 mL;

Bastão de vidro;

Béquer de 100 mL;

Erlenmeyer de 125 mL com tampa esmerilhada;

Funil de vidro;

Papel de filtro qualitativo;

Pipetas volumétricas de 5, 10 e 20 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido clorídrico (HCl) 2 N;

Solução de ácido Wolfrâmico: dissolver 7 g de tungstato de sódio ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) p.a. em 870 mL de água, adicionar 0,1 mL de solução de ácido ortofosfórico (H_3PO_4) a 88 % (m/v) e 70 mL de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1 N;

Solução de amido ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) a 1 % (m/v);

Solução de cloramina-T ($\text{C}_7\text{H}_7\text{ClNNaO}_2\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$) 0,04 N;

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 N;

Solução de iodeto de potássio (KI) a 10 % (m/v);

Solução de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,041 N.

3. Procedimento

Em um béquer de 100 mL, pesar 10 g de amostra. Adicionar água fervente e dissolver bem a amostra com ajuda de um bastão de vidro. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 50 mL.

Adicionar aproximadamente 10 mL de água, 20 mL de solução de ácido Wolfrâmico e completar o volume. Agitar, deixar decantar e filtrar em papel de filtro. Recolher o filtrado em erlenmeyer (codificar como A).

Inversão da sacarose: num balão volumétrico de 50 mL, colocar 10 mL do filtrado A, aproximadamente 10 mL de água e 5 mL de solução de ácido clorídrico 2 N. Deixar em banho-maria a 60 0C por 15 minutos (agitar durante os três primeiros minutos). Esfriar a 20 0C, adicionar 10 mL de solução de hidróxido de sódio 1 N e completar o volume com água (codificar como B).

Determinação do teor de Lactose e Sacarose: pipetar em 3 erlenmeyers de 125 mL com tampa esmerilhada 10 mL de filtrado A (lactose), no primeiro, 10 mL de B (sacarose), no segundo, e 10 mL de água (branco) no terceiro. Colocar em cada erlenmeyer 5 mL de solução de iodeto de potássio a 10 % e exatamente 20 mL de solução de cloramina-T 0,04 N (deverá ocorrer uma coloração âmbar). Umedecer as tampas dos erlenmeyers com solução de iodeto de potássio a 10 %, tampar e deixar em lugar escuro por 1 hora e 30 minutos (\pm 10 minutos). Decorrido esse tempo adicionar 5 mL de solução de ácido clorídrico 2 N, 10 mL de solução de tiosulfato de sódio 0,041 N e titular com a mesma solução de tiosulfato sódio. Ao titular com a solução de tiosulfato de sódio 0,041 N, a cor âmbar deve clarear passando para amarelo. Neste ponto, colocar 4 a 6 gotas de solução de amido a 1 % (responsável pelo aparecimento da coloração azul).

Continuar a titulação até a viragem para incolor (a leitura é feita uma gota antes da viragem).

4. Cálculos

$$\% \text{ lactose} = (V_b - V_A) \times f \times 0,0072 \times 100 \times 0,995 \times (100/m)$$

Onde:

V_b = volume da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco, em mL;

V_A = volume da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação do filtrado A (lactose), em mL;

f = fator de correção da solução de tiosulfato de sódio;

m = massa da amostra, em gramas;

0,0072 = massa de lactose monohidratada em gramas correspondente a 1 mL da solução de tiosulfato de sódio 0,041 N;

0,995 = correção para volume do precipitado.

$$\% \text{ sacarose} = [(V_b - V_B) \times 5 - (V_b - V_A)] \times f \times 0,00685 \times 0,995 \times 100 \times (100/m)$$

Onde:

V_B = mL da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação de B (sacarose invertida + lactose);

V_b = volume da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco, em mL;

V_A = volume da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação do filtrado A (lactose), em mL;

f = fator de correção da solução de tiosulfato de sódio;

m = massa da amostra, em gramas;

5 = fator de diluição da amostra na inversão da sacarose;

0,00685 = massa de sacarose, em gramas correspondente a 1 mL da solução de tiosulfato de sódio 0,041 N;

0,995 = correção para volume do precipitado.

BIBLIOGRAFIA

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PINTO, M.: HOUBRAKEN, A. Métodos de analisis químicos de leche y productos lacteos. Santiago: FAO, 1976.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F.; CASAGRANDE H. R.

Revista do Instituto de Laticínios. Cândido Tostes, Juíz de Fora, MG, v. 37, n. 222, p. 3-7, 1982.

ÍNDICE DE ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS SOLÚVEIS E INSOLÚVEIS (REICHERT - MEISSEL E POLENSKE)

1. Princípio

A gordura é saponificada com uma solução de hidróxido de sódio e glicerina e a solução obtida é diluída com água e acidificada com ácido sulfúrico. Os ácidos graxos voláteis são destilados e os ácidos graxos insolúveis são separados dos solúveis por filtração. A solução aquosa de ácidos solúveis e a solução etanólica de ácidos insolúveis são titulados separadamente com solução alcalina de normalidade conhecida, usando fenolftaleína como indicador.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Aparelho para determinação dos Índices de Reichert - Meissl e Polenske;

Balança analítica;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balão volumétrico de 110 mL com marcação para 100 e 110 mL;

Balão de fundo chato de 300 mL;

Béquer de 50 mL;

Bico de Bunsen;

Borracha adaptável a erlenmeyer de 250 mL, com orifício que permita adaptação ao tubo de refluxo;

Bureta de 25 mL;

Erlenmeyer de 150 e 250 mL;

Funil;

Papel de filtro qualitativo;

Pérolas de vidro;

Pipeta volumétrica de 100 mL;

Pipetas graduadas de 1 e 5 mL;

Provetas de 25 e 100 mL;

Suporte e garras metálicas;

Tubo de refluxo de ± 50 cm de comprimento.

2.3. Reagentes:

Álcool etílico (C_2H_5OH) 95% p.a. neutralizado;

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

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 2,5 % (v/v);

Solução de hidróxido de sódio ($NaOH$) 0,1 N;

Solução de hidróxido de sódio ($NaOH$) ou potássio (KOH) em glicerol ($C_3H_8O_3$): adicionar 20 mL de solução de hidróxido de sódio ou potássio a 50% em 180 mL de glicerol.

3. Procedimento

3.1. Pesar 50 g da amostra, fundir em estufa a 45 - 50 °C e filtrar com papel de filtro qualitativo. Pesar 5 g de gordura fundida e filtrada em béquer de 50 mL e transferir, com auxílio de 20 mL de solução de hidróxido de sódio ou potássio em glicerol para um balão de fundo chato de 300 mL. Acoplar o tubo de refluxo e aquecer até completa saponificação, agitando ocasionalmente. O final da saponificação é reconhecido pela limpidez do líquido. Esfriar. Adicionar 90 mL de água fervida, resfriada até 70 °C. Esfriar. Adicionar 50 mL da solução de ácido sulfúrico a 2,5 % e algumas pérolas de vidro.

Ligar o balão ao condensador e destilar através do aparelho de Reichert - Meissl e Polenske conforme o modelo detalhado em figuras nas metodologias citadas, recebendo o destilado em balão volumétrico de 110 mL. Regular o aquecimento para que os 110 mL sejam destilados em 30 minutos. Após o fim da destilação desligar o aquecimento.

Receber as últimas gotas do destilado em uma proveta de 25 mL e reservar para a determinação do índice de Polenske (3.2). O destilado é filtrado em filtro seco para um erlenmeyer de 250 mL.

Reservar o papel de filtro para a determinação do índice de Polenske (3.2). Transferir com pipeta volumétrica 100 mL do filtrado para erlenmeyer de 250 mL, adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até leve coloração rósea. Efetuar prova em branco.

3.2. Filtrar as últimas gotas do destilado obtido em 3.1. na proveta de 25 mL, no mesmo filtro que contém os insolúveis da determinação do índice de Reichert - Meissl. Lavar a proveta de 25 mL, o balão volumétrico de 110 mL e o condensador com 3 porções de 15 mL de água passando pelo filtro com os resíduos e desprezando o filtrado. Lavar a proveta, o balão volumétrico e o condensador com 3 porções de

15 mL de álcool etílico a 95 % neutralizado. Filtrar no mesmo filtro, recebendo as soluções alcoólicas em erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até leve coloração rósea persistente por 30 segundos.

4. Cálculos

4.1. Índice de Reichert - Meissl = $[(V_a - V_b) \times f \times 5 \times 1,1]$

m

Onde:

V_a = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N, gasto na titulação da amostra, em mL;

V_b = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N, gasto na titulação do branco, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

m = massa da amostra, em gramas.

4.2. Índice de Polenske = $(V_a - V_b) \times f \times 5 m$

Onde:

V_a = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N, gasto na titulação da amostra, em mL;

V_b = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N, gasto na titulação do branco, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

m = massa da amostra, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

FIRESTONE, D. Oils and fats. In: HELRICH, K. (Ed.).

Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants. 15th ed.

Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, cap. 41, p. 958-959.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord). Óleos e gorduras. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz:

métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, cap. 17, p. 245-266.

ÍNDICE DE CMP

1. Princípio.

Este método baseia-se na detecção e quantificação de caseínomacropéptido (CMP) proveniente da ação proteolítica de enzimas por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com separação em coluna de filtração em gel e detecção em ultravioleta (UV).

2. Material.

2.1. Equipamentos:

Agitador magnético;

Balança analítica;

Banho de água;

Coluna cromatográfica hidrofílica para separação de macromoléculas por filtração em gel com as seguintes características: partículas de sílica esféricas com diâmetro nominal de 4 a 4,5mm (micrômetro), superfície modificada estabilizada com zircônio, diâmetro do poro 150Å (Angstrom), área superficial 140m²/g (metroquadrado/ grama), camada hidrofílica mono molecular tipo diol, coluna com 9,4mm (milímetros) de diâmetro e 250mm (milímetros) de comprimento da coluna (similar a Zorbax GF 250 Bioséries da Agilent);

Sistema cromatográfico, equipado com detector UV a 205 ou 210nm (nanômetro), volume de injeção de 20 ou 30mL (microlitros) e com fluxo da fase móvel de 1,0 a 1,5mL/min (mililitro por minuto).

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balões volumétricos de 1.000, 500, 250, 100 e 50mL;

Béqueres de 1.000, 500, 250, 100 e 50mL;

Bureta de 50mL;

Funil de vidro;

Micropipeta;

Pipeta graduada de 20mL;

Pipeta volumétrica de 10, 5, 4, 3, 2, 1 e 0,5mL;

Papel de filtro qualitativo.

2.3. Reagentes:

Ácido tricloroacético (C₂HCl₃O₂) p.a.;

Ácido fosfórico concentrado (H₃PO₄) p.a.;

Caseína-macropéptido de pureza conhecida;

Dihidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄) p.a.;

Hidrogenofosfato de potássio (K₂HPO₄) p.a.;

Hidróxido de potássio (KOH) p.a.;

Matriz branca de leite fluido integral;

Sulfato de sódio (Na₂SO₄) p.a.

3. Procedimentos.

3.1. Preparo de soluções.

3.1.1. Solução de ácido tricloroacético a 24%.

Em béquer de 100mL, pesar 24g de ácido tricloroacético.

Transferir para balão volumétrico de 100mL, completar o volume e homogeneizar. Pode-se preparar solução com 48% de ácido tricloroacético e diluir para 24% no momento da análise.

3.1.2. Solução de ácido fosfórico a 3mol/L.

Em balão volumétrico de 250mL, adicionar 100mL de água deionizada destilada. Acrescentar 50mL do ácido fosfórico concentrado pelas paredes do balão, homogeneizar, deixar esfriar à temperatura ambiente e completar o volume.

3.1.3. Solução de hidróxido de potássio a 3mol/L.

Em béquer de 250mL, pesar 42g de hidróxido de potássio.

Dissolver e transferir para balão volumétrico de 250mL. Deixar esfriar e completar o volume. Transferir para frasco de plástico.

3.1.4. Fase móvel tampão fosfato pH 6,0.

Dissolver 1,74g de hidrogenofosfato de potássio, 12,37g de dihidrogenofosfato de potássio e 21,41g de sulfato de sódio em, aproximadamente, 700mL de água deionizada destilada. Para a utilização de reagentes com molécula de hidratação, fazer as correções nas massas utilizadas. Ajustar o pH da solução para 6,0 usando solução de ácido fosfórico 3mol/L e solução de hidróxido de potássio a 3mol/L. Transferir para balão volumétrico de 1.000mL, completar o volume com água deionizada destilada e filtrar a solução em membrana de 0,45mm. Antes do uso, degaseificar.

3.2. Preparo da curva de calibração.

Preparar, no mínimo, 5 (cinco) soluções padrão de CMP que contemple, no mínimo, um ponto abaixo de 30mg/L e um ponto acima de 75mg/L em matriz branca de leite fluido integral. Em seguida precipitar com ácido tricloroacético, deixar em repouso por 60 minutos e filtrar em papel de filtro qualitativo. No caso de soluções padrão turva, filtrar em unidade filtrante com membrana de diâmetro de poro de 0,45mm. Injetar cada solução no sistema cromatográfico.

3.3. Preparo das amostras congeladas.

Para amostras congeladas, descongelar a amostra de leite até a temperatura ambiente. Para tanto, colocar as amostras em refrigerador no dia anterior da análise ou utilizar banho de água à 30°C.

Homogeneizar.

3.4. Preparo de amostras a partir de leite em pó.

Pesar 10 g de leite em pó desnatado ou 13g de leite em pó integral, acrescentar 100mL de água com auxílio de uma proveta e agitar até a completa dissolução. Para leite parcialmente desnatado ou semi-desnatado, verificar a forma de reconstituição de acordo com o fabricante.

3.5. Tratamento das amostras.

Em uma alíquota de 20,0mL das amostras preparadas conforme os itens 3.3 e 3.4 adicionar 10,0mL de ácido tricloroacético a 24% gota a gota e sob agitação constante. Deixar em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente e filtrar em papel qualitativo descartando as primeiras gotas do filtrado. No caso de

amostras turvas, filtrar em unidade filtrante com 0,45mm. Injetar cada amostra tratada no sistema cromatográfico.

4. Cálculos e expressão dos resultados.

4.1. Curva de calibração.

Calcular a curva de regressão linear ($Y = AX + B$), onde, A representa a declividade, ou o coeficiente angular ou a inclinação da reta, e B, a interseção com o eixo Y ou o coeficiente linear, usando a concentração de CMP em miligramas por litro versus altura ou área do pico. Aceitar a curva para valores de $R > 0,95$.

4.2. Amostras.

Identificar o pico com o mesmo tempo de retenção do CMP.

Calcular a concentração de CMP em miligramas por litro nas amostras pela equação da curva de calibração ($Y = AX + B$).

4.3. Expressão dos resultados.

Os resultados das amostras devem ser expressos em miligramas de CMP por litro (mg/L).

BIBLIOGRAFIA

ALVIM, T.C. Efeito da qualidade do leite na detecção de soro lácteo por cromatografia líquida de alto desempenho - filtração gélica (GF-HPLC). 1992, 63 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DIÁRIO OFICIAL [da] REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL. Poder Executivo. Brasília, DF, 20 nov., 1991. Seção 1, anexo II, p. 26.246.

OLIEMAN, C.; VANRIEL, J. A. M., Detection of rennet whey solids in skim milk powder and buttermilk powder with reversedphase HPLC. Netherlands Milk and Dairy Journal, Amsterdam, v. 43, p. 171 - 184, 1989. {catálogo coletivo nacional de publicação seriadas} base do IBICT

ÍNDICE DE INSOLUBILIDADE

1. Princípio

Fundamenta-se na determinação do volume, em mililitros, de sedimento (resíduo insolúvel), obtido quando um leite em pó ou produto lácteo em pó é reconstituído e centrifugado.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Centrífuga, carregamento vertical, que produza 160 gravidades (g) de aceleração no fundo do tubo, mantendo a temperatura a 20 - 25 °C;

Misturador elétrico com 16 lâminas em ângulo de 30°, distância entre lâminas de 8,73 mm, distância das lâminas ao fundo do copo de 10 mm, alcance de frequência rotacional de 3600 rpm em menos de 5 segundos, equipado ou não com cronômetro.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro com 150 a 200 mm de comprimento;

Copos para misturador de 500 mL, diâmetros superiores interno de 84 mm e externo de 97 mm, altura interna de 132 mm e externa de 154 mm, diâmetros inferiores interno de 55 mm e externo de 88 mm;

Espátula;

Fonte de luz;

Lente de aumento;

Papel manteiga 140 x 140 mm para pesagem da amostra;

Papel toalha;

Proveta de 100 mL;

Seringas de vidro ou plástico de 30 ou 50 mL com agulha longa;

Termômetro;

Tubos de centrífuga de 135 mm de comprimento, de vidro, cônicos, graduados, com divisões de 0,1 mL entre as marcas de 0,1 e de 1,0 mL e de 0,2 mL entre as marcas de 1,0 e de 2,0 mL, com volume total de 50 mL.

2.3. Reagente:

Antiespumante à base de 30 % de silicone.

3. Procedimento

Preparar a jarra do misturador, mantendo-a em banho-maria por tempo suficiente para atingir a temperatura de 24 °C para produtos processados por sistema spray ou 50 °C para produtos processados por sistema roller, com o nível da água próximo ao topo da jarra. Imediatamente antes de seu uso, retirá-la do banho-maria, enxugando rapidamente com papel toalha. (Na prática, e para o caso de se trabalhar com o pó elaborado por spray, esta operação será desnecessária se a temperatura da sala onde se encontrarem estocadas as jarras estiver em torno de 24 °C).

Manter a amostra em frasco a temperatura de 20 a 25 °C por 48 horas. Misturar bem, invertendo o frasco contendo a amostra. No caso de leite em pó instantâneo, misturar cuidadosamente, para evitar diminuição do tamanho da partícula. Pesar, usando papel manteiga dobrado duas vezes e reaberto sobre o prato da balança, conforme os itens 3.1. a 3.3.. Transferir 100 mL de água a 24 ou 50 °C para a jarra do misturador, acrescentar 3 gotas de antiespumante. Transferir a amostra previamente pesada para a jarra, de modo que toda a alíquota caia sobre a superfície da água. Misturar por 90 segundos a 3600 rpm e deixar a jarra em repouso por não menos do que 5 minutos e por não mais do que 15 minutos. Adicionar mais 3 gotas de antiespumante, misturar cuidadosamente com uma espátula por 10 segundos e transferir imediatamente para um tubo de centrífuga, até a marca de 50 mL. Centrifugar de modo a obter 160 gravidades durante 5 minutos em temperatura de 20 a 25 °C. Retirar o tubo e descartar a camada de gordura com uma espátula. Colocar o tubo em posição vertical e remover o sobrenadante até a marca de 15 mL para produtos processados pelo sistema roller ou 10 mL para produtos processados pelo sistema spray com o auxílio de uma seringa sem causar qualquer distúrbio ao sedimento. Adicionar água a 24 ou a 50 °C até a marca de 30 mL e dispersar o sedimento com um bastão de vidro.

Encostar o bastão na parede interna do tubo ao retirá-lo e acrescentar mais água até a marca de 50 mL.

Tampar o tubo com rolha de borracha e invertê-lo lentamente por 5 vezes. Remover a tampa e centrifugar de modo a obter 160 gravidades durante 5 minutos em temperatura de 20 a 25 °C. Durante a centrifugação a escala graduada do tubo deverá estar voltada para um dos lados e não para cima ou para baixo. Remover o tubo, colocá-lo em posição vertical contra a fonte de luz e fazer a leitura do volume de sedimento com auxílio de uma lente de aumento, se necessário.

3.1. Leite em pó integral, leite em pó parcialmente desnatado e alimentos infantis: pesar 13,0 g;

3.2. Leite em pó desnatado e leite em pó: pesar 10,0 g;

3.3. Soro de queijo em pó: pesar 7,0 g.

4. Resultados

Expressar os resultados como: volume de sedimento / temperatura de procedimento.

Exemplo: 0,2 mL / 24 °C.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 129 A:1988:

dried milk and dried milk products. Brussels,1988. 6 f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

ÍNDICE DE PERÓXIDOS

1. Princípio

Devido a sua ação fortemente oxidante, os peróxidos orgânicos formados no início da rancificação atuam sobre o iodeto do potássio, liberando iodo, que será titulado com tiosulfato de sódio em presença de amido como indicador.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria ou placa aquecedora;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Béquer de 250 mL;

Bureta de 25 mL;

Cápsulas de porcelana;

Frasco para determinação de índice de iodo ou erlenmeyer de 250 mL, com rolha esmerilhada;

Funil;

Papel de filtro;

Pipetas graduadas de 1 e 5 mL;

Pipetas volumétricas de 25 mL;

Provetas de 50 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de amido ((C₆H₁₀O₅)_n) a 1 % (m/v) recentemente preparada;

Solução de clorofórmio (CHCl₃) p.a. e ácido acético (CH₃COOH) p.a. (1+3) ;

Solução de tiosulfato de sódio pentahidratado (Na₂S₂O₃.5H₂O) 0,01 N;

Solução saturada de iodeto de potássio (KI).

3. Procedimento

Transferir porções de partes diversas da amostra previamente preparada para béquer de 250 mL. Colocar em estufa a 50 °C. Fundir a amostra e deixar separar as camadas. Filtrar em papel de filtro qualitativo recebendo a gordura filtrada em béquer de 100 mL. Pesar cerca de 5 g de gordura em frasco para determinação de índice de iodo. Adicionar 30 mL de mistura clorofórmio e ácido acético (1+3) e agitar para dissolver. Adicionar 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio, agitar e deixar em repouso por 1 minuto na ausência de luz. Adicionar 30 mL de água, lavando a rolha. Titular com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N até que a coloração amarela tenha diminuído. Adicionar 0,5 mL de solução de amido a 1 % e continuar a titulação, agitando até desaparecer a coloração azul.

Efetuar prova em branco, subtraindo seu resultado da titulação da amostra.

4. Cálculos

Índice de peróxido em mEq/kg = (V_a - V_b) x N x f x 1000 m

Onde:

V_a = volume da solução de tiosulfato de sódio 0,01N gasto na titulação da amostra, em mL;

V_b = volume da solução de tiosulfato de sódio 0,01N gasto na titulação do branco, em mL;

N = normalidade da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N;

f = fator de correção da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N;

m = massa da amostra, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Banha.

In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 8, p. 2.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Óleos e gorduras. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz:

métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, cap.17, p. 256.

ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO DE KOELLSTORGES

1. Princípio

Fundamenta-se na saponificação dos ácidos graxos e posterior neutralização com solução alcalina de concentração conhecida em presença de indicador fenolftaleína.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Bico de Bunsen ou placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Buretas de 25 e 50 mL;

Condensador Liebig ou tubo de refluxo com 50 cm de comprimento e 10 mm de diâmetro interno como rolha de borracha;

Erlenmeyer de 250 mL;

Pipetas graduadas de 1 e 20 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido clorídrico (HCl) 0,5 N;

Solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1 % (m/v);

Solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH) a 4 % (m/v).

3. Procedimento

Pesar 2 g da amostra de gordura fundida e filtrada em erlenmeyer de 250 mL. Adicionar com auxílio de uma pipeta, 20 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio a 4 %. Adaptar ao erlenmeyer um condensador ou tubo de refluxo e aquecer até ebulição branda durante 30 minutos. Resfriar a uma temperatura suportável ao tato. Adicionar 2 gotas da solução de fenolftaleína a 1 %. Titular com solução de ácido clorídrico 0,5 N até que a coloração rósea desapareça.

Fazer uma prova em branco. A diferença entre os volumes gastos com a amostra e o branco equivale à quantidade de solução de hidróxido de potássio a 4 %, gastos na saponificação.

4. Cálculos

Índice de saponificação de koellstorges: $(V_a - V_b) \times N \times f \times 56 m$

Onde:

Va = volume da solução de ácido clorídrico 0,5 N gasto na titulação da amostra, em mL;

Vb = volume da solução de ácido clorídrico 0,5 N gasto na titulação do branco, em mL;

f = fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,5 N;

m = massa da amostra, em gramas;

N = normalidade da solução de ácido clorídrico 0,5 N;

56 = equivalente-grama do hidróxido de potássio.

BIBLIOGRAFIA MEHLENBACHER, V.C. Chemical characteristics. In: _____.

The analysis of fats and oils. Champaign: Garrard. 1960, cap. 6, p. 294-301.

MERCK. Reativos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Óleos e gorduras. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz:

métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, cap.17, p. 247-248.

LIPÍDIOS

Método A: Roesse-Gottlieb

1. Princípio

Baseia-se no uso de hidróxido de amônio para solubilizar a caseína, neutralizar a acidez e reduzir a viscosidade; no álcool etílico para quebrar a emulsão gordura-caseína e na mistura éter etílico-éter de petróleo para extrair a gordura. O éter de petróleo é usado para diminuir a solubilidade das substâncias não lipídicas, solúveis no éter etílico. A gordura assim extraída é determinada gravimetricamente.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Centrífuga de Mojonnier;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béqueres de 150 ou 250 mL;

Frascos de extração do tipo Mojonnier, com rolhas de silicone;

Pipetas graduadas de 10 mL;

Provetas de 25 mL;

Tenaz metálica;

Suporte para frascos de Mojonnier.

2.3. Reagentes:

Álcool etílico (C₂H₅OH) p.a.;

Solução de amônia contendo aproximadamente 25 % (m/m) de NH₃, densidade 910 g/L, ou solução mais concentrada de concentração conhecida;

Solução de vermelho Congo (C₃₂H₂₂N₆Na₂O₆S₂) a 1 %, (m/v);

Éter etílico (C₄H₁₀O), livre de peróxidos, sem antioxidantes (ou não mais do que 2 mg/kg), compatível com as especificações para o teste em branco. Para testar se o éter encontra-se livre de peróxidos, adicionar 1 mL de uma solução de iodeto de potássio 100 g/L, preparada no momento do uso, a 10 mL do éter em um pequeno frasco com tampa de vidro que tenha sido previamente enxaguado

com o mesmo éter. Fechar o frasco, agitar e deixar em repouso por 1 minuto. Se o produto estiver livre de peróxidos, não deverá ocorrer a formação de coloração amarela em quaisquer das camadas;

Éter de petróleo p.a..

3. Procedimento

Secar um béquer de 150 ou 250 mL por 1 hora em estufa a 102 + 2 °C. Esfriar. Pesar e reservar para recepção da gordura. Às amostras preparadas conforme os itens 3.1. a 3.5., adicionar 2 mL da solução de amônia (ou volume equivalente de uma solução mais concentrada) ao frasco de Mojonnier e misturar. A partir desse ponto, a análise deve ser conduzida sem demora. Para os itens 3.2. e 3.5.

aquecer o frasco a 65 + 2 °C em banho-maria por 15 a 20 minutos agitando ocasionalmente e esfriar a temperatura ambiente. Para todos os itens acrescentar 10 mL de álcool etílico e misturar cuidadosamente, sem agitação forte, mas deixando o líquido fluir entre os dois bulbos, inclinando o frasco de extração sem que o líquido atinja a tampa. Se necessário, adicionar 2 gotas de solução de vermelho congo a 1 %. Adicionar 25 mL de éter etílico, fechar o tubo com uma tampa de silicone e agitar vigorosamente o frasco de extração, mas não de maneira excessiva (para evitar a formação de emulsões persistentes) por 1 minuto, com o frasco na posição horizontal e o bulbo menor voltado para cima. Se necessário, lavar a rolha com um pouco da mistura de éteres, de modo que a solução seja recolhida no frasco de Mojonnier. Adicionar 25 mL de éter de petróleo, reumidecendo a tampa e agitando por 30 segundos conforme especificado acima.

Remover a tampa e lavá-la com a mistura de éteres, tendo cuidado para que a solução de lavagem caia no interior. Centrifugar ou deixar o frasco de Mojonnier em repouso por 30 minutos no seu suporte. Se a interface localizar-se abaixo da constricção do bulbo, adicionar lentamente um pouco de água pela parede interna do frasco. Transferir o sobrenadante para o béquer, segurando o frasco de extração pelo bulbo menor. Lavar a saída do frasco com a mistura de éteres, recolhendo o material no béquer. Se necessário, pode-se fazer uma primeira remoção dos solventes nesse ponto, por evaporação ou outro processo adequado. Adicionar 5 mL de álcool etílico ao frasco de Mojonnier. O emprego dessa substância visa prevenir a formação de uma camada aquosa viscosa ou gelificada, especialmente em produtos contendo sacarose, além de melhorar a precisão do método. Conduzir uma segunda extração, usando 15 mL dos éteres etílico e de petróleo.

Realizar uma terceira extração, omitindo o uso do álcool. Transferir o sobrenadante para o béquer, lavando a saída do frasco de Mojonnier com a mistura de éteres. Remover os solventes, incluindo o álcool, por evaporação ou outro processo adequado. Transferir o béquer para estufa a 102 + 2 °C por 1

hora. Remover o frasco da estufa, deixar esfriar e pesar. Essas operações de transferência do frasco deverão ser conduzidas com tenaz. Repetir a operação acima até a massa constante.

Adicionar 25 mL de éter de petróleo ao frasco para verificar se todo material solubiliza-se. Aquecer levemente e agitar até que toda a gordura se dissolva. Se todo o material se dissolver, calcular a massa da gordura através da diferença entre a massa final do béquer contendo a gordura e a massa inicial do mesmo béquer. Se o extrato não for totalmente solúvel no éter de petróleo, fazer a extração da parte gordurosa, deixar que o material insolúvel se sedimente e descartar o éter de petróleo, repetindo essa operação 3 - 4 vezes. Secar o béquer em estufa a $102 \pm 2^\circ\text{C}$ por 1 hora, esfriar como mencionado acima e pesar novamente o béquer, agora com o resíduo insolúvel. Conduzir um teste em branco substituindo a amostra por 10 mL da água.

3.1. Leite Fluído: aquecer a amostra a $35 - 40^\circ\text{C}$, misturar cuidadosamente, de modo a não provocar separação de gordura e esfriar rapidamente a 20°C . Para amostras de leite desnatado, não esfriar a amostra, que deverá ser pesada a $30 - 40^\circ\text{C}$. Misturar a amostra com cuidado, invertendo o frasco que a contém por 3 - 4 vezes. Pesar exatamente cerca de 10 g diretamente no frasco de Mojonnier;

3.2. Leite desidratado: misturar completamente a amostra por inversão e rotação do frasco e pesar diretamente no frasco de Mojonnier, cerca de 1 g de leite em pó integral ou 1,5 g de leite semidesnatado, desnatado, soro em pó ou leite em pó. Adicionar 10 mL de água a $65 \pm 5^\circ\text{C}$ para levar todo o pó para o bulbo menor de frasco e misturar até completa dispersão. Esfriar.

3.3. Creme de leite: pesar exatamente uma porção da amostra homogeneizada que produza 0,3 a 0,6 g de gordura extraída (dependendo do conteúdo de gordura do creme). Pesar diretamente no frasco de extração ou em béquer de 50 mL com posterior transferência quantitativa para o frasco de extração. Adicionar água aproximadamente a 50°C até obter o volume total de 10 a 11 mL, lavando a amostra para o bulbo menor do frasco de extração. Misturar completamente a amostra no bulbo menor. Esfriar.

3.4. Doce de leite e leite condensado: pesar exatamente de 2 a 5 g da amostra homogeneizada diretamente no frasco de extração ou em béquer de 50 mL, acrescentar cerca de 10 mL de água a aproximadamente 50°C agitando cuidadosamente o frasco e mantendo

o aquecido nesta temperatura até o produto ficar completamente disperso. No caso de usar o béquer, usar bastão de vidro para dispersar a amostra em pequenas porções de água a 50°C , totalizando cerca de 10 mL, e transferir para o frasco extrator.

3.5. Leite fermentado: pesar exatamente cerca de 5 g de amostra homogeneizada diretamente no frasco de extração. Adicionar volume de água a $65 \pm 2^\circ\text{C}$ suficiente para totalizar de 10 a 11 mL, lavando a amostra para o bulbo menor do frasco e misturar completamente.

4. Cálculos

$$\% \text{ Gordura} = (m_1 - m_2) - (m_3 - m_4) \times 100 \text{ mo}$$

Onde:

mo = massa da amostra, em gramas;

m1 = massa do béquer com gordura, em gramas;

m2 = massa inicial do béquer ou, no caso de material insolúvel no éter de petróleo, massa do béquer com a massa do resíduo insolúvel, em gramas;

m3 = massa do béquer usado no teste em branco, em gramas;

m4 = massa inicial do béquer usado no teste em branco ou, no caso de material insolúvel no éter de petróleo, massa do béquer com a massa do resíduo insolúvel, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 116 A:1987:

milk, based edible ices and ice mixes: determination of fat content (Röse Gottlieb gravimetric method)(reference method). Brussels, 1987. 8 f.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 13C:1987: evaporated milk and sweetened condensed milk: determination of fat content (Röse Gottlieb reference method). Brussels, 1987. 7 f.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 16C:1987:

cream: determination of fat content(Röse Gottlieb reference method).

Brussels, 1987. 7 f.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 1C:1987: milk:

determination of fat content (RöseGottlieb reference method).Brussels, 1987. 8 f.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 9C:1987: dried milk dried whey, dried buttermilk and dried butter serum: determination of fat content (Röse Gottlieb reference method). Brussels, 1987. 7 f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p

LIPÍDIOS

Método B: Butirométrico para creme de leite

1. Princípio

Tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico.

O ácido digere as proteínas que se encontram ligadas à gordura, diminuindo a viscosidade do meio, aumentando a densidade da fase aquosa e fundindo a gordura, devido à liberação do calor proveniente da reação, o que favorece a separação da gordura pelo extrator (álcool isoamílico). A leitura é feita na escala graduada do butirômetro, após centrifugação e imersão em banho-maria.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Banho-maria;

Centrífuga de Gerber.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Butirômetro de Köhler;

Pipetas de 1 e 10 mL ou dispensador;

Seringa de aço inox Gerber ou similar de 5 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) com densidade 1,820 a 1,825 a 20 °C, transferir 125 mL de água para um frasco de vidro de paredes resistentes. Colocar o frasco em um banho de gelo. Medir 925 mL de ácido sulfúrico p.a., com densidade de 1,840 e transferir lenta e cuidadosamente pelas paredes do frasco contendo a água.

Agitar cuidadosamente o frasco contendo a mistura (a reação é fortemente exotérmica). Esfriar a solução até a temperatura de 20 oC e conferir a densidade com um densímetro adequado.

Álcool isoamílico (C₅H₁₂O) densidade 0,81 a 20 °C.

3. Procedimento

Transferir, com seringa de Gerber ou similar, 5 mL da amostra homogeneizada para butirômetro de Köhler contendo 10 mL de solução de ácido sulfúrico de densidade 1,820 a 1,825. Com a mesma seringa, transferir 5,0 mL de água a 70 - 80oC para o mesmo butirômetro.

Acrescentar 1,0 mL de álcool isoamílico, tampar o butirômetro, agitando vigorosamente. Centrifugar durante 5 minutos a 1200 rpm e incubar em banho-maria a 65 oC por 10 minutos. Repetir as operações de centrifugação e incubação.

4.Resultados

Retirar o butirômetro do banho-maria e fazer a leitura direta da porcentagem de gordura da amostra.

BIBLIOGRAFIA

SCHNEIDER, K. Analisis de la leche. 11a ed. Madrid:: Dossat, 1960.

SILVA, P.H.F. et al. Físico-química do leite e derivados:

métodos analíticos. Juiz de Fora - MG: Oficina de Impressão Gráfica. 1997.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584p

LIPÍDIOS

Método C: Butirométrico para leite fluído

1. Princípio

Baseia-se no ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Banho-maria;

Centrífuga de Gerber.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Butirômetro de Gerber para leite com rolhas;

Medidores automáticos de 1 e 10 mL;

Pipeta volumétrica de 11 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) densidade de 1,820 a 1,825 a 20 °C: adicionar 925 mL de ácido sulfúrico p.a. com densidade de 1,840 sobre 125 mL de água, lenta e cuidadosamente, em banho de gelo. Esfriar até temperatura de 20 °C e conferir a densidade com o densímetro.

Álcool isoamílico (C₅H₁₂O) densidade = 0,81 a 20 °C.

3. Procedimento

Adicionar a um butirômetro, 10 mL da solução de ácido sulfúrico. Transferir 11 mL de amostra homogeneizada, para o butirômetro lentamente e pela parede deste, para evitar sua mistura com o ácido. Acrescentar 1 mL de álcool isoamílico. Limpar as bordas do butirômetro com papel de filtro e fechar com rolha apropriada. Envolver o butirômetro em um pano, colocando o bulbo maior na palma da mão de forma tal que o dedo polegar exerça pressão sobre a tampa, impedindo sua projeção; agitar o butirômetro, de modo a promover a mistura completa dos líquidos no interior do aparelho, tomando precauções para evitar acidentes e mantendo o polegar sobre a tampa. Centrifugar durante 5 minutos de 1000 a 1200 rpm e transferir para banho-maria a 65 °C por 5 minutos; repetir as operações de centrifugação e de incubação.

4. Cálculos

Ler a porcentagem de gordura diretamente na escala do aparelho e na base do menisco formado pela camada de gordura, imediatamente após retirar o aparelho do banho-maria. Se a coluna não estiver bem delineada, misturar novamente o conteúdo do aparelho e repetir os procedimentos de centrifugação e aquecimento.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Banha In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 14, p. 4-5.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p. LIPÍDIOS

Método D: Butirométrico para leite desidratado

1. Princípio

Baseia-se na separação e quantificação da gordura por meio do tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico. O ácido dissolve as proteínas que se encontram ligadas à gordura, diminuindo a viscosidade do meio, aumentando a densidade da fase aquosa e fundindo a gordura, devido à liberação de calor proveniente da reação, o que favorece a separação da gordura pelo extrator (álcool amílico). A leitura é feita na escala do butirômetro, após centrifugação e imersão em banho-maria.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Centrífuga de Gerber.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Butirômetro de Teichert com rolhas;

Pipetas graduadas de 1 e 10 mL ou dispensadores.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) de densidade 1,820 a 1,825 a 20 °C: transferir 125 mL de água para um frasco de vidro de paredes resistentes. Colocar o frasco em um banho de gelo. Medir 925 mL de ácido sulfúrico p.a., com densidade de 1,840 e transferir lenta e cuidadosamente pelas paredes do frasco contendo a água.

Agitar cuidadosamente o frasco contendo a mistura (a reação é fortemente exotérmica). Esfriar a solução até a temperatura de 20 °C e conferir a densidade com um densímetro adequado.

Álcool isoamílico ($C_5H_{12}O$) de densidade 0,81 a 20 °C.

3. Procedimento

Adicionar 10 mL de solução de ácido sulfúrico no butirômetro, sem molhar o seu gargalo. Adicionar lentamente cerca de 10 mL de água. Pesar direta e exatamente no butirômetro 2,5 g da amostra. Acrescentar 1 mL de álcool isoamílico. Fechar o butirômetro e imediatamente agitar com vigor. Transferir o butirômetro para o banho-maria, durante 10 minutos. Centrifugar por 10 minutos a 1200 rpm. Retornar o butirômetro ao banho-maria por mais 10 minutos, com a rolha para baixo. Repetir as operações de centrifugação e incubação.

4. Resultados

Fazer a leitura da porcentagem de gordura da amostra, diretamente na escala do butirômetro.

BIBLIOGRAFIA

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584p PINTO, M. : HOUBRAKEN, A. Metodos de analisis quimicos de leche y productos lacteos. Santiago: FAO 1976.

SCHNEIDER, K. Analisis de la leche, 11a. ed. Madrid: Dossat, 1960.

SILVA, P.H.F. et al. Físico-química do leite e derivados:

métodos analíticos. Juiz de Fora - MG: Oficina de Impressão Gráfica. 1997.

LÍPIDIOS

Método E: Butirométrico para leite desidratado e creme de leite pelo butirômetro de leite

1. Princípio

Baseia-se no ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Centrífuga de Gerber.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Béquer de 50 mL;

Butirômetro de Gerber para leite com rolhas;

Pipetas graduadas de 5 e 10 mL ou dispensadores.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) densidade de 1,500 a 20 °C: adicionar 505 mL de ácido sulfúrico p.a. com densidade de 1,840 sobre 575 mL de água, lenta e cuidadosamente, em banho de gelo.

Esfriar até temperatura de 20 °C e conferir a densidade com o densímetro.

Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) densidade de 1,605 a 20 °C: adicionar 630 mL de ácido sulfúrico p.a. com densidade de 1,840 sobre 460 mL de água, lenta e cuidadosamente, em banho de gelo.

Esfriar até temperatura de 20 °C e conferir a densidade com o densímetro.

Álcool isoamílico (C₅H₁₂O) densidade de 0,81 a 20 °C.

3. Procedimento

Pesar exatamente cerca de 1 g de amostra homogeneizada em um béquer de 50 mL. Para leite desidratado adicionar 10 mL da solução de ácido sulfúrico com densidade de 1,500 a 20 °C e para creme de leite adicionar 10 mL da solução de ácido sulfúrico com densidade 1,605 a 20 °C. Aquecer a + 60 °C em ambos os casos e homogeneizar com bastão de vidro. Transferir cuidadosamente para butirômetro, com auxílio de bastão de vidro. Lavar o béquer 2 ou 3 vezes com 3 a 4 mL da solução de ácido sulfúrico para completar 19 mL. Adicionar 1 mL de álcool isoamílico. Enxugar a boca do butirômetro com papel e fechar com rolha apropriada. Agitar, invertendo várias vezes o butirômetro. Levar ao banho-maria a 65 °C por 15 minutos. Centrifugar por 15 minutos a 1200 rpm. Repetir as operações de banho-maria e centrifugação mais 2 vezes e fazer a leitura na escala do butirômetro.

4. Cálculos

$$\% \text{ de LIPÍDIOS} = L \times 11,33 \text{ m}$$

Onde:

L = leitura no butirômetro;

11,33 = massa em gramas do leite se utilizarmos o método de Rose-Gottlieb;

m = massa da amostra, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional

de Referência Animal.

Salsicharia, In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 2, p. 9-15.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584p.

LIPÍDIOS

Método F: Butirométrico para manteiga

1. Princípio

Baseia-se na separação e quantificação da gordura por meio de tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico. O ácido dissolve as proteínas que se encontram ligadas à gordura, diminuindo a viscosidade do meio, aumentando a densidade da fase aquosa e fundindo a gordura, devido a liberação de calor proveniente da reação, o que favorece a separação da gordura pelo extrator (álcool isoamílico). A leitura é feita na escala do butirômetro, após centrifugação e imersão em banho-maria.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Centrífuga de Gerber.

2.2. Vidrarias, utensílios e outros:

Butirômetro de Gerber para manteiga;

Pipetas graduadas de 1, 5 e 10 mL ou dispensadores.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4), densidade 1,820 a 1,825 a 20 °C: transferir 125 mL de água para um frasco de vidro de paredes resistentes. Colocar o frasco em um banho de gelo. Medir 925 mL de ácido sulfúrico p.a., com densidade de 1,840 e transferir lenta e cuidadosamente pelas paredes do frasco contendo a água.

Agitar cuidadosamente o frasco contendo a mistura (a reação é fortemente exotérmica). Esfriar a solução até a temperatura de 20 °C e conferir a densidade com um densímetro adequado.

Ácido isoamílico ($C_5H_{12}O$) densidade 0,81 a 20 °C.

3. Procedimento

Pesar exatamente 5 g de amostra homogeneizada, diretamente no copo do butirômetro e adaptá-lo na parte inferior do mesmo, tampando de modo a obter-se boa vedação. Adicionar 5 mL de água e em seguida 10 mL da solução de ácido sulfúrico. Colocar 1 mL de álcool isoamílico, acrescentar água até a última marcação, limpar as bordas do butirômetro e fechar com rolha apropriada. Agitar

de modo a promover a mistura completa dos líquidos no interior do aparelho. Centrifugar por 10 minutos a 1200 rpm e transferir para banho-maria a 65 °C por 5 minutos, repetir as operações de centrifugação e de incubação.

4. Resultados

Retirar o butirômetro do banho-maria e fazer a leitura direta da porcentagem de gordura da amostra, na escala do butirômetro.

BIBLIOGRAFIA

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Queijo, manteiga, margarina e extrato de soja. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v.

1, cap.16, p. 233.

LIPÍDIOS

Método G: Manteiga

1. Princípio

Fundamenta-se na extração da gordura da amostra dessecada de manteiga, através de éter de petróleo ou de n-hexano, calculada por diferença através da subtração do teor de umidade e do teor de sólidos não gordurosos (SNG) de 100 %.

2. Procedimento

Determinar o teor de umidade e de insolúveis em éter da manteiga conforme suas respectivas metodologias.

3. Cálculos

% de gordura = 100 - (U + I)

Onde:

U = % de umidade da manteiga;

I = % de insolúveis da manteiga.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION.80:1977: butter: determination of water, solids non fat and fat contents on the same test portion. Brussels,1977.2 f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

LIPÍDIOS

Método H: Butirométrico para queijo

1. Princípio

Baseia-se no ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Centrífuga de Gerber.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Butirômetro de Gerber para queijo com rolhas;

Pipetas graduadas de 1, 5 e 10 mL ou dispensadores.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) densidade de 1,820 a 1,825 a 20 °C: transferir 125 mL de água para um frasco de vidro de paredes resistentes. Colocar o frasco em um banho de gelo. Medir 925 mL de ácido sulfúrico p.a., com densidade de 1,840 e transferir lenta e cuidadosamente pelas paredes do frasco contendo a água.

Agitar cuidadosamente o frasco contendo a mistura (a reação é fortemente exotérmica). Esfriar a solução até a temperatura de 20 °C e conferir a densidade com um densímetro adequado.

Álcool isoamílico (C₅H₁₂O) densidade de 0,81 a 20 °C.

3. Procedimento

Pesar exatamente 3 g da amostra homogeneizada diretamente no copo do butirômetro. Acoplar o copo do butirômetro à parte inferior de forma a ficar bem vedado. Em seguida adicionar cerca de 5 mL de água, 10 mL da solução de ácido sulfúrico e 1 mL de álcool isoamílico. Transferir o butirômetro para banho-maria a 65 °C para auxiliar na dissolução da amostra. Colocar a tampa no butirômetro e agitá-lo até que se dissolva toda a amostra. Realizar esta agitação cuidadosamente, envolvendo o butirômetro em uma toalha de mão para evitar acidentes. Quando a amostra apresentar-se dissolvida, retirar a tampa superior do butirômetro e adicionar água até a última marcação deste. Enxugar a borda do butirômetro com papel absorvente e recolocar a tampa. Centrifugar por 10 minutos a 1200 rpm e ler a porcentagem de gordura diretamente na escala do butirômetro.

Repetir as operações de aquecimento e centrifugação, se necessário.

4. Resultados

Fazer a leitura da porcentagem de gordura da amostra, diretamente na escala do butirômetro.

BIBLIOGRAFIA PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Queijo, manteiga, margarina e extrato de soja. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v.

1, cap.16, p. 233.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992 /93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

LIPÍDIOS

Método I: Butirométrico para queijo pelo butirômetro de leite

1. Princípio

Baseia-se no ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Centrífuga de Gerber.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Béquer de 50 mL;

Butirômetro de Gerber para leite com rolhas;

Pipetas graduadas de 5 e 10 mL ou dispensadores.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) densidade de 1,605 a 20 °C: adicionar 630 mL de ácido sulfúrico p.a. com densidade de 1,840 sobre 460 mL de água, lenta e cuidadosamente, em banho de gelo.

Esfriar até temperatura de 20 °C e conferir a densidade com o densímetro.

Álcool isoamílico (C₅H₁₂O) densidade de 0,81 a 20 °C.

3. Procedimento

Pesar exatamente cerca de 1 a 2 g da amostra homogeneizada em béquer de 50 mL. Adicionar 10 mL da solução de ácido sulfúrico e aquecer a 60 °C. Homogeneizar com bastão até dissolução completa do resíduo. Passar cuidadosamente para o butirômetro lavando duas vezes o béquer com 4 mL da solução de ácido sulfúrico.

Adicionar ao butirômetro 1 mL de álcool isoamílico. Enxugar a boca do butirômetro, colocar a rolha apropriada, agitar e transferir para banho-maria a 65 °C durante 10 minutos. Centrifugar durante 5 minutos.

Recolocar no banho-maria por mais 10 minutos e fazer a leitura.

4. Cálculos

$$\% \text{ de LIPÍDIOS} = L \times 11,33 \text{ m}$$

Onde:

L = leitura no butirômetro;

11,33 = massa em gramas do leite se utilizarmos o método de Rose-Gottlieb;

m = massa da amostra, em gramas.

BIBLIOGRAFIA:

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Queijos, In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes:

métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981 v. II, cap. 17, p. 3-4.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p. LIPÍDIOS

Método J: Schmid-Bondzynski-Ratzlaff 1. Princípio Baseia-se na digestão da amostra com ácido clorídrico, adição de álcool etílico e subsequente extração da solução ácido-etanólica com éter etílico e éter de petróleo, remoção dos solventes por destilação ou evaporação e determinação da massa de substâncias extraídas solúveis em éter de petróleo.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Centrífuga de Mojonnier;

Banho-maria;

Estufa;

Placa aquecedora.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béqueres de 100 e 250 mL;

Frasco de extração tipo Mojonnier;

Proveta de 25 mL;

Pipeta graduada de 10 mL;

Tenaz metálica;

Suporte para frascos de Mojonnier.

2.3. Reagentes:

Solução de ácido clorídrico (HCl), $d_{20} = 1,125$ g/mL: dissolver 675 mL de ácido clorídrico concentrado $d_{20} = 1,18$ g/mL em água e completar o volume para 1000 mL;

Álcool etílico (C₂H₅OH) p.a.;

Éter etílico (C₄H₁₀O) p.a.;

Éter de petróleo p.a.;

Mistura de solventes: éter de petróleo + éter etílico (1 + 1).

Preparar imediatamente antes do uso.

3. Procedimento

Pesar exatamente cerca de 1 a 3 g da amostra diretamente no frasco de extração ou em béquer de 100 mL (3 g para queijos com teor de gordura até 30 % e 1 a 3 g para queijos com teores mais elevados de gordura). Conduzir um teste em branco. Adicionar 8 a 10 mL da solução de ácido clorídrico ao frasco de extração ou ao béquer contendo a amostra e misturar. Aquecer em banho-maria por 20 a 30 minutos ou cuidadosamente sobre uma chapa por até 10 minutos, para que todas as partículas sejam dissolvidas. Esfriar o frasco ou o béquer.

Se a digestão foi feita no frasco de extração, adicionar 10 mL de álcool etílico e misturar o conteúdo do frasco, evitando seu contato com a tampa. Se a digestão foi feita num béquer de 100 mL, transferir seu conteúdo para um frasco de extração. Lavar o béquer de 100 mL sucessivamente com 10 mL de álcool etílico, 25 mL de éter etílico e 25 mL de éter de petróleo, transferindo cada porção para o frasco de extração. Após adicionar 25 mL de éter etílico ao frasco de extração, tampar e agitar na posição horizontal, com o bulbo menor voltado para cima. Remover cuidadosamente a tampa e lavá-la com a mistura de solventes, recebendo a lavagem em béquer de 250 mL previamente pesado. Adicionar 25 mL de éter de petróleo, fechar o frasco e agitar cuidadosamente por 30 segundos, como descrito acima.

Centrifugar o frasco fechado por 1 a 5 minutos a 500 - 600 rpm. Se não se dispuser de centrífuga, deixar o frasco de extração durante 30 minutos na estante até separação entre as camadas aquosa e gordurosa.

Remover a tampa, lavar com a mistura de solventes e receber o material de lavagem no béquer de 250 mL previamente pesado.

Segurando o frasco de extração pelo bulbo menor, transferir o máximo possível da camada sobrenadante. Lavar a parte externa do frasco de extração com a mistura de solventes. Recomenda-se colocar desde já o béquer de 250 mL no banho-maria a 65 oC para evaporação dos solventes. Conduzir uma segunda, e uma terceira extração usando 15 mL de cada tipo de éter, transferindo a camada sobrenadante para o béquer de 250 mL. A terceira extração poderá ser omitida para produtos contendo 3 % ou menos de gordura. Remover os solventes tanto quanto possível por evaporação e transferir o béquer de 250 mL para estufa a 102 + 2 oC durante 1 hora. Esfriar e pesar. Repetir as operações de secagem e pesagem até massa constante.

Adicionar 25 mL de éter de petróleo ao béquer para verificar se o material extraído é totalmente solúvel. Aquecer cuidadosamente e agitar o solvente até que toda gordura esteja dissolvida. Se o material extraído for totalmente solúvel no éter de petróleo, considerar a massa de gordura como a massa final obtida no item anterior. Se o material extraído não for totalmente solúvel no éter de petróleo, extrair completamente a gordura do béquer através de repetidas lavagens com éter de petróleo em banho-maria. Deixar que se deposite qualquer traço de material insolúvel e cuidadosamente decantar o éter de petróleo, repetindo esta operação 3 ou mais vezes. Remover os vapores de éter de petróleo contidos no béquer original através de aquecimento em estufa a 102 + 2 oC por 1 hora. Esfriar e pesar como já descrito.

4. Cálculos

$$\% \text{ de gordura} = (m_1 - m_2) - (m_3 - m_4) \times 100 \text{ mo}$$

Onde:

m_0 = massa da amostra, em gramas;

m_1 = massa do béquer com material extraído, em gramas;

m_2 = massa do béquer com resíduo insolúvel, se houver, em gramas;

m_3 = massa do béquer usado no teste em branco;

m₄ = massa do béquer usado no teste em branco, o qual poderá conter resíduo insolúvel, resultante das lavagens com éter de petróleo.

Observação: Método aplicável à todos os tipos de queijos naturais e processados que possuam teor de lactose abaixo de 5 % (m/m) dos sólidos não gordurosos.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 5B: 1986: cheese and processed cheese products:determination of fat content (gravimetric method) (reference method). Brussels,1986 7p.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

NITRATOS

1. Princípio

O nitrato é reduzido a nitrito por ação do cádmio esponjoso em meio alcalino. A seguir, é feita a diazotação dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando o ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea. O produto resultante é determinado espectrofotometricamente a 540 nm.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Agitador magnético;

Balança analítica;

Banho-maria;

Espectrofotômetro.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balões volumétricos de 50, 100 e 250 mL;

Béquer de 50 mL;

Erlenmeyers de 125, 250 ou 500 mL;

Funil;

Pipeta graduada de 5 mL;

Papel de filtro qualitativo;

Pipetas volumétricas de 5, 10 e 20 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de tetraborato de sódio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) a 5 % (m/v);

Solução de ferrocianeto de potássio trihidratado ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a 15 % (m/v);

Solução de sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ou acetato de zinco dihidratado ($(\text{CH}_3\text{COO})_2$

Zn.2H₂O) a 30 % (m/v);

Solução de sulfanilamida (C₆H₈N₂O₂S) a 0,5 % (m/v): dissolver 1,25 g de sulfanilamida p.a. em 250 mL de solução de ácido clorídrico (HCl) (1+1). A solução é estável por 1 a 2 meses;

Solução de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina (C₁₂H₁₆Cl₂N₂) a 0,5 % (m/v): dissolver 0,5 g de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina p.a. em 100 mL de água. Estocar em frasco âmbar sob refrigeração. A solução deve ser desprezada quando apresentar alteração da coloração;

Solução tampão pH 9,6 - 9,7: diluir 20 mL de ácido clorídrico (HCl) p.a. em cerca de 500 mL de água. Adicionar 50 mL de hidróxido de amônio (NH₄OH) p.a. e completar para 1000 mL com água. Verificar o pH e ajustar se necessário;

Solução tampão pH 9,6 - 9,7 diluído (1+9): tomar 100 mL da solução tampão pH 9,6 - 9,7 e diluir para 1000 mL com água.

Cádmio esponjoso: preparar 1000 mL de solução de sulfato de cádmio (3CdSO₄.8H₂O) a 20 % (m/v) e transferir para um béquer de 2000 mL. Adicionar de 8 a 10 barras de zinco metálico, deixando-as totalmente imersas na solução. A medida em que for depositando cádmio nas barras, retirar utilizando espátula de porcelana ou de material plástico e transferir para um béquer contendo água em quantidade suficiente para cobrir todo o cádmio. Transferir todo o conteúdo do béquer para um copo de processador (constituído de material plástico ou de vidro), homogeneizar e em seguida passar em peneira de 35 mesh, recolhendo em outro béquer, mantendo o cádmio sempre coberto com água. O material retido na peneira deverá retornar ao béquer de 2000 mL com barras de zinco para posterior reaproveitamento. O cádmio batido e peneirado será posto a decantar completamente. Remover a água sobrenadante e iniciar o tratamento do resíduo (cádmio esponjoso) da seguinte maneira: cobrir todo o cádmio com solução de ácido clorídrico (HCl) 2 N; deixar em contato (repouso) por dois minutos, no máximo; decantar e remover o ácido clorídrico sobrenadante; lavar o cádmio com água até pH neutro ou pH da água empregada na lavagem, avaliando o pH com papel indicador;

adicionar solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 N até cobrir todo o cádmio deixando em repouso por 15 minutos, no mínimo;

decantar e remover o ácido clorídrico sobrenadante; lavar o cádmio com água até pH neutro; decantar e remover a água sobrenadante e adicionar solução tampão pH 9,6 - 9,7 diluída (1+9) e deixar em contato por, no mínimo, 15 minutos. Decorrido este tempo o cádmio estará pronto para ser utilizado. O cádmio deverá permanecer imerso no tampão diluído durante a condução da análise, sendo lavado posteriormente com água e deixado em repouso, sempre imerso em água até que seja recuperado (a recuperação consiste em tratar o cádmio utilizado nas análises de acordo com o mesmo procedimento descrito acima). O cádmio esponjoso não usado deverá ser mantido em água.

Substituir a água do cádmio esponjoso por tampão pH 9,6 - 9,7 diluído (1+9) pelo menos 15 minutos antes da sua utilização em análises.

Solução padrão estoque de nitrito de sódio (NaNO₂) p.a.:

pesar 500 mg de nitrito de sódio de pureza mínima de 99 %, previamente seco por 24 horas em dessecador, transferir para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume. Transferir 5 mL da solução para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume, 1 mL desta solução corresponde a 2,5 mg de nitrito de sódio.

Curva padrão de Nitrito de sódio: pipetar alíquotas de 1,0

3,0 - 5,0 - 10 - 15 - 20 e 25 mL da solução de nitrito de sódio a 2,5 mg/mL para balões volumétricos de 50 mL. Adicionar a cada um, 5 mL de solução de sulfanilamida a 0,5 %, aguardar 3 minutos e adicionar 3 mL de solução de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina a 0,5 %, agitando após cada adição. Completar o volume e homogeneizar.

Deixar em repouso por 30 minutos (ao abrigo da luz) e ler a 540 nm contra um branco dos reagentes. Construir a curva de absorbância x concentração (mg nitrito de sódio/50 mL) e calcular o fator F de correção da curva.

Solução padrão de nitrato de sódio (NaNO₃) p.a.: dessecar o nitrato de sódio por 24 horas em dessecador. Pesar 0,1 g e dissolver em água. Adicionar 50 mL da solução tampão pH 9,6 - 9,7 e completar para 100 mL com água. Tomar 1 mL desta solução e levar para 100 mL com água (solução de trabalho). A solução padrão de nitrato de sódio deverá ser preparada no momento da análise. Tomar 20 mL desta solução, para verificar a eficiência da redução do nitrato para nitrito, cada vez que forem preparados novos reagentes, e transferir para erlenmeyer de 125 mL. Adicionar 5 mL da solução tampão pH 9,6 - 9,7 e, aproximadamente, 20 g do cádmio esponjoso. Lavar as paredes do erlenmeyer com o mínimo de água. Colocar no agitador por 15 minutos e deixar sedimentar. Filtrar o sobrenadante em papel de filtro qualitativo, recolhendo diretamente em balão volumétrico de 100 mL. Lavar o erlenmeyer no mínimo 3 vezes com água, agitando por 2 minutos a cada lavagem. Sedimentar e filtrar. Lavar o papel de filtro e completar o volume com água. Pipetar 10 mL para um balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 5 mL da solução tampão pH 9,6

9,7. Adicionar 5 mL da solução de sulfanilamida a 0,5 % e agitar.

Após 3 minutos adicionar 3 mL da solução de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina a 0,5 % e completar o volume com água. Após 30 minutos (ao abrigo da luz) fazer a leitura a 540 nm. A eficiência da redução deve estar entre 95 e 105%, caso contrário tratar novamente o cádmio.

3. Procedimento

Pesar 10 g de amostra homogeneizada em béquer de 50 mL.

Transferir para erlenmeyer de 500 mL com o auxílio de 100 mL de água quente. Adicionar 5 mL de solução de tetraborato de sódio a 5 %. Deixar em banho-maria por 15 minutos, agitando frequentemente.

Esfriar à temperatura ambiente. Com o auxílio de um funil e bastão de vidro, passar o conteúdo do erlenmeyer, quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL. Lavar bem o erlenmeyer com aproximadamente 50 mL de água quente (60 °C). Deixar esfriar e adicionar 5 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15 % e 5 mL de solução de sulfato ou acetato de zinco a 30 %. Agitar por rotação após a adição de cada reagente e completar o volume com água.

Filtrar em papel de filtro qualitativo. Transferir uma alíquota de 20 mL do filtrado desproteínizado para um erlenmeyer de 125 mL.

Adicionar 5 mL da solução tampão pH 9,6 - 9,7 e aproximadamente 20 g do cádmio esponjoso. Lavar as paredes do erlenmeyer com o mínimo de água. Colocar no agitador por 15 minutos, no mínimo e deixar sedimentar. Filtrar o sobrenadante em papel de filtro qualitativo, recolhendo diretamente em balão volumétrico de 100 mL.

Lavar o erlenmeyer no mínimo 3 vezes com água, agitando por 2 minutos a cada lavagem. Sedimentar e filtrar. Lavar o papel de filtro e completar o volume com água. Pipetar 10 mL para um balão volumétrico de 50 mL.

Adicionar 5 mL da solução tampão pH 9,6 - 9,7. Adicionar 5 mL da solução de sulfanilamida a 0,5 % e agitar. Após 3 minutos adicionar 3 mL da solução de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina a 0,5 % e completar o volume com água. Após 30 minutos (ao abrigo da luz) fazer a leitura a 540 nm. O resultado obtido refere-se ao teor de nitritos totais.

4. Cálculos

mg/mL de nitritos totais (NaNO₂) = A x 125 x F m

Onde:

A = absorvância da amostra;

F = fator da curva de nitrito de sódio;

m = massa da amostra, em gramas.

mg/mL de nitrato (NaNO_3) = (nitrito totais - nitrito) x 1,231 Onde:

1,231 = fator de conversão dos nitritos em nitratos.

Observações:

1) Os nitritos são determinados a partir do filtrado desproteinizado e prosseguindo como descrito na metodologia de nitritos.

2) Usar água isenta de nitritos.

BIBLIOGRAFIA

CAMPOS, G.; CUNHA, M.R.R. Redução de nitrito a nitrato através de cádmio pelo método de coluna e da agitação mecânica.

Belo Horizonte: Fundação Ezequiel Dias, [1995] Mimeografado.

MERCK. Reativos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

SEN, N.P.; DONALDSON, B. Improved colorimetric method for determining nitrate and nitrite in foods. Journal Association of Official Analytical Chemistry, Arlington, Va. v. 61, n. 6, p. 1389-1394, 1978

NITRITOS

1. Princípio

Baseia-se na reação de diazotização de nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando o ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea. O produto resultante é determinado espectrofotometricamente a 540 nm.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Espectrofotômetro.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balões volumétricos de 50 e 250 mL;

Béquer de 50 mL;

Erlenmeyers de 250 ou 500 mL;

Funil;

Papel de filtro qualitativo;

Pipeta graduada de 5 mL;

Pipetas volumétricas de 5, 10 e 20 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de tetraborato de sódio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) a 5 % (m/v);

Solução de ferrocianeto de potássio trihidratado ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a 15 % (m/v);

Solução de sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ou acetato de zinco dihidratado ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a 30 % (m/v);

Solução de sulfanilamida ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) a 0,5 % (m/v): dissolver 1,25 g de sulfanilamida em 250 mL de solução de ácido clorídrico (HCl) (1+1). A solução é estável por 1 a 2 meses;

Solução de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$) a 0,5 % (m/v): dissolver 0,5 g de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina em 100 mL de água deionizada. Estocar em frasco âmbar sob refrigeração. A solução deve ser desprezada quando apresentar alteração da coloração;

Solução padrão estoque de nitrito de sódio (NaNO_2) p.a.:

pesar 500 mg de nitrito de sódio de pureza mínima de 99 %, previamente seco por 24 horas em dessecador, transferir para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume. Transferir 5 mL da solução para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume, 1 mL desta solução corresponde a 2,5 mg de nitrito de sódio.

Curva padrão de Nitrito de sódio: pipetar alíquotas de 1,0

3,0 - 5,0 - 10 - 15 - 20 e 25 mL da solução de nitrito de sódio a 2,5 mg/mL para balões volumétricos de 50 mL. Adicionar a cada um, 5 mL de solução de sulfanilamida a 0,5 %, aguardar 3 minutos e adicionar 3 mL de solução de cloreto de alfa-naftiletilenodiamina a 0,5 %, agitando após cada adição. Completar o volume e homogeneizar.

Deixar em repouso por 30 minutos (ao abrigo da luz) e ler a 540 nm contra um branco dos reagentes. Construir a curva de absorbância x concentração (mg nitrito de sódio/50 mL) e calcular o fator F de correção da curva.

3. Procedimento

Pesar 10 g de amostra homogeneizada em béquer de 50 mL.

Transferir para erlenmeyer de 250 mL com o auxílio de 100 mL de água deionizada quente. Adicionar 5 mL de solução de tetraborato de sódio a 0,5 %. Deixar em banho-maria por 15 minutos, agitando frequentemente. Esfriar à temperatura ambiente. Com o auxílio de um funil e bastão de vidro, passar o conteúdo do erlenmeyer, quantitativamente, para balão volumétrico de 250 mL. Lavar bem o erlenmeyer com aproximadamente 50 mL de água deionizada quente (60 °C). Deixar esfriar. Adicionar 5 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 15 % e 5 mL de solução de sulfato ou acetato de zinco a 30 %. Agitar por rotação após a adição de cada reagente e completar o volume com água. Filtrar em papel de filtro qualitativo. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 5 mL de solução de sulfanilamida a 0,5 %, deixar reagir por 3 minutos, adicionar 3 mL de solução de cloreto de

alfa-naftiletilenodiamina a 0,5 %, agitando após cada adição. Completar o volume com água deionizada e homogeneizar. Deixar em repouso por 30 minutos (ao abrigo da luz) e ler a 540 nm. Fazer um branco correspondente.

4. Cálculos

mg/mL nitrito de sódio = $A \times 25 \times F$

Onde:

A = absorvância da amostra;

F = fator da curva de nitrito de sódio;

m = massa da amostra, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Salsicharia. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 2, p. 17-19.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

NITROGÊNIO TOTAL

1. Princípio

Baseia-se na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio através da digestão com ácido sulfúrico p.a. e posterior destilação com liberação da amônia, que é fixada em solução ácida e titulada. Pode-se expressar os resultados em protídios, multiplicando-se a porcentagem do nitrogênio total por fator específico.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Aparelho ou bloco digestor e destilador macro, semi micro ou micro-Kjeldahl;

Balança analítica.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balão de Kjeldahl de 800 mL ou tubo de Kjeldahl de 250 ou 100 mL;

Béquer de 250 mL;

Buretas de 25 ou 50 mL;

Erlenmeyers de 125 ou 250 mL;

Espátula;

Papel indicador universal de pH;

Papel de pesagem (papel vegetal livre de nitrogênio);

Pipeta graduada de 1 e 10 mL;

Provetas de 50, 100 e 250 mL;

Tenaz metálica.

2.3. Reagentes:

Ácido sulfúrico (H_2SO_4) p.a.;

Anti-espumante (talco, parafina ou silicone);

Indicador misto: pesar 0,132 g de vermelho de metila ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$) e 0,06 g de verde de bromocresol ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$).

Dissolver em 200 mL de solução de álcool etílico a 70 % (v/v).

Filtrar se necessário e guardar em frasco âmbar. O indicador misto poderá ser incorporado à solução de ácido bórico a 4 % na proporção de 8 mL por litro;

Mistura catalítica:

a) Sulfato de potássio (K_2SO_4) p.a., sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) p.a. ou bissulfato de potássio (KHSO_4) p.a.;

b) Sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) p.a.;

c) Misturar (a) e (b) na proporção de (10+1), triturando em gral de porcelana até obter um pó fino.

Solução de ácido bórico (H_3BO_3) a 4 % (m/v): pesar 4 g de ácido bórico p.a., transferir para um béquer de 250 mL, adicionar 80 mL de água e aquecer sob agitação branda até dissolução. Resfriar, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar com água.

Filtrar se necessário;

Solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 50 % (m/v);

Solução padrão de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,1 N ou solução padrão de ácido clorídrico (HCl) 0,1 N;

Zinco metálico granulado.

3. Procedimento

a) Micro e semi micro-Kjeldahl Digestão ou mineralização:

Pesar em balança analítica a amostra de acordo com os itens de 3.1 a 3.6 e transferir para tubo de Kjeldahl. Adicionar 2,5 g de mistura catalítica e 7 mL para micro e 10 mL para o semi micro de ácido sulfúrico p.a.. Aquecer em bloco digestor, a princípio, lentamente, mantendo a temperatura de 50 °C por 1 (uma) hora ou dependendo das instruções do fabricante do bloco digestor. Em seguida, elevar gradativamente até atingir 400 °C. Quando o líquido se tornar límpido e transparente, de tonalidade azul-esverdeada, retirar do aquecimento, deixar esfriar e adicionar 10 mL de água.

Observação: Para produtos muito gordurosos, digerir a amostra com adição de um anti-espumante.

Destilação:

Acoplar ao destilador um erlenmeyer contendo 20 mL de solução de ácido bórico a 4 % com 4 ou 5 gotas

de solução de indicador misto (erlenmeyer receptor do destilado). Adaptar o tubo de Kjeldahl ao destilador e adicionar a solução de hidróxido de sódio a 50 % até que a mesma se torne negra (cerca de 20 mL). Proceder a destilação coletando cerca de 100 mL do destilado. A solução receptora deve ser mantida fria durante a destilação.

Titulação:

Titular com solução de ácido sulfúrico 0,1 N ou solução de ácido clorídrico 0,1 N até a viragem do indicador.

b) Macro-Kjeldahl Digestão ou mineralização:

Pesar em balança analítica a amostra de acordo com os itens 3.1 a 3.6 e transferir para balão de Kjeldahl. Adicionar 5 g de mistura catalítica, 20 mL de ácido sulfúrico p.a. e algumas pérolas de vidro ou pedaços de porcelana. Aquecer no digestor, a princípio, lentamente e depois fortemente até emissão de vapores brancos (400 °C). Quando o líquido se tornar límpido, de tonalidade azul-esverdeada (após 2 horas de digestão), retirar do digestor, deixar esfriar e adicionar 300 mL de água.

Destilação:

Colocar 3 a 4 grânulos de zinco metálico no balão de digestão.

Adicionar solução de hidróxido de sódio a 50 % até que a solução se torne negra (em torno de 100 mL). Receber o destilado em 25 mL de solução de ácido bórico a 4 % e 4 a 5 gotas de solução de indicador misto.

Titulação:

Titular com solução de ácido sulfúrico 0,1 N ou solução de ácido clorídrico 0,1 N até a viragem do indicador.

3.1. Leite fluído, bebida láctea:

Micro: 2,0 g;

Semi: 5,0 g;

Macro: 10,0 g.

3.2. Leite desidratado, caseína, caseinatos e soro desidratado:

Micro: 0,25 g;

Semi: 0,5 g;

Macro: 1,0 g.

3.3. Queijos:

Micro: 0,25 g;

Semi: 0,5 g;

Macro: 1,0 g.

3.4. Creme de leite:

Micro: 1,0 g;

Semi: 3,0 g;

Macro: 6,0 a 10,0 g.

3.5. Doce de leite:

Micro: 0,25 g;

Semi: 0,5 g;

Macro: 1,0 g.

3.6. Leite fermentado:

Micro: 1,5 g;

Semi: 3,0 g;

Macro: 6,0 g.

4. Cálculos

$\% \text{ nitrogênio total} = V \times N \times f \times 0,014 \times 100 \text{ m}$

$\% \text{ protídios} = \% \text{ nitrogênio total} \times F$ Onde:

V = volume da solução de ácido sulfúrico 0,1 N, ou solução de ácido clorídrico 0,1 N, gasto na titulação após a correção do branco, em mL;

N = normalidade teórica da solução de ácido sulfúrico 0,1 N ou solução de ácido clorídrico 0,1 N;

f = fator de correção da solução de ácido sulfúrico 0,1 N ou solução de ácido clorídrico 0,1 N;

m = massa da amostra, em gramas;

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

Observações:

1) Verificar as condições da digestão utilizando uma quantidade de sacarose que consuma aproximadamente a mesma quantidade de ácido sulfúrico, que consumiria uma amostra típica do produto. Estimar a quantidade de sacarose com as seguintes informações:

1 g de gordura consome, 18 g de ácido;

1 g de proteína consome, 9 g de ácido;

1 g de carboidrato consome, 7 g de ácido;

1 g de sacarose consome, 7 g de ácido.

2) Verificar as condições do aparelho de destilação com solução padrão de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) p.a., cuja recuperação deve ser no mínimo 99,5 % em nitrogênio.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Salsicharia. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 2, p. 3-6.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION: 20B:1993:

milk: determination of nitrogen content.brussels,1993. 11 f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Determinações gerais. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, cap.4, p. 44-45.

RICHARDSON, G.H. Dairy products. In: HELRICH, K.

(Ed.) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants.

15th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, cap 33, p. 808-809, 834.

PARTÍCULAS QUEIMADAS EM LEITES DESIDRATADOS

PELO PROCESSO SPRAY DRIER

Método A: Water Disc

1. Princípio

Fundamenta-se na reconstituição da amostra, posterior filtração por discos de algodão e comparação com discos padrões.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança semi-analítica;

Equipamento de filtração por aspiração ou por pressão através de um disco de algodão de dimensões padronizadas;

Estufa regulada a 30 - 40°C;

Misturador do tipo Waring Blender ou similar.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Cartão Comparador/Classificador ADPI, contendo os 4 padrões de classificação da amostra quanto ao nível de partículas queimadas.

As fotografias do cartão comparador costumam esmaecer com o tempo. Sempre que fora de uso deverá ser guardado em envelope escuro ou entre cartões de cor negra;

Discos de filtração de partículas queimadas, de algodão, diâmetro 1 1/4 (= 3,175 cm), individuais ou

montados em cartões (a apresentação dos filtros depende do tipo de equipamento de filtração);

Proveta de 250 mL.

2.3. Reagente:

Anti-espumante, com 30 % de silicone.

3. Procedimento

Transferir 250 mL de água deionizada para a jarra do misturador.

Acionar a rotação do misturador e adicionar 25g de leite em pó desnatado, leite ou derivado em pó ou 32,5g de leite em pó integral. Adicionar aproximadamente 0,5 mL de anti-espumante e misturar por cerca de 1 minuto. Filtrar todo o conteúdo da jarra através do disco padrão de algodão instalado no equipamento de filtração por aspiração ou por pressão. Lavar a jarra com cerca de 50 mL de água e filtrar esse material no mesmo filtro. Se a amostra reconstituída for deixada em repouso antes da filtração, agité-la vigorosamente imediatamente antes de passá-la pelo filtro. As amostras reconstituídas, ao serem deixadas em repouso, devem ser cobertas.

Remover o filtro do equipamento, fixá-lo num cartão apropriado ou folha de papel quadriculada (quadrados com cerca de 6 cm de lado, identificados com o número da amostra) e deixar secar em atmosfera livre de partículas ou em estufa a 30 - 40 °C por breve período de tempo. Comparar o disco seco com as fotos do Cartão Comparador, sob luz uniforme e indireta.

4. Resultados

Quando a leitura situar-se entre dois padrões, classificar a amostra de acordo com a letra mais alta. Exemplo: se o disco exibir mais partículas queimadas do que as do Padrão A, porém menos do que as do padrão B, deverá ser classificado como B. Proceder da mesma forma com os outros discos.

BIBLIOGRAFIA AMERICAN DAIRY PRODUCTS INSTITUTE. Standards for grades of milks, including methods of analysis. Chicago. [19--] p. 33-34.

pH

1. Princípio

Fundamenta-se na medida da concentração de íons hidrogênio na amostra.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Agitador magnético;

Balança analítica;

Banho-maria;

Centrífuga;

pHmetro;

Refrigerador.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Béqueres de 25, 30, 50 e 100 mL;

Erlenmeyer de 125 mL;

Pipeta volumétrica de 20 mL;

Proveta de 100 mL;

Tubos de centrífuga.

2.3. Reagentes:

Solução tampão pH 4;

Solução tampão pH 7.

3. Procedimento

Calibrar o pHmetro com as soluções tampões pH 4 e 7.

Medir o pH da amostra preparada conforme os itens 3.1. a 3.3.

3.1. Leites: medir o pH colocando cerca de 50 mL de amostra em um béquer de 100 mL;

3.2. Queijos: adicionar cerca de 20 mL de água em um béquer de 50 mL. Acrescentar quantidade suficiente de amostra previamente preparada, misturando com bastão de vidro de modo a obter uma pasta homogênea;

3.3. Manteiga (fase aquosa): aquecer cerca de 100 g da amostra num frasco mantido em banho-maria a 45 - 50 oC, até completa fusão da gordura e separação de fases. A amostra não deverá sofrer agitação neste período. Após total separação das fases, remover o soro atravessando a camada de gordura com uma pipeta volumétrica de 20 mL (para não permitir a entrada da camada sobrenadante, tampar a extremidade superior da pipeta com um dedo).

Transferir o conteúdo da pipeta para um tubo de centrífuga e centrifugar a 1200 rpm por 3 minutos. Colocar o tubo em um suporte e levar a geladeira por 2 horas, tendo o cuidado de não provocar distúrbios na camada de gordura. Este tempo de repouso sob refrigeração permitirá a ascensão da gordura remanescente e a sua solidificação. Após a formação de uma camada sólida de gordura, atravessá-la novamente com uma pipeta, transferindo o soro para um béquer de 30 mL. Aquecer o soro à temperatura de operação do pHmetro e determinar o pH.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Queijos. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 17, p. 5 -6, HALIB FOODS International LTD - Products Especification.

HELRICH, K. (Ed.). Standard solutions and certified reference.

In: _____. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food

composition: additives: natural contaminants. 15th ed. Arlington: Association of official analytical chemists, 1990. v. 2, p. 640-641. Appendix.

MILK INDUSTRY FOUNDATION. Laboratory Manual:

methods of analysis of milk and its products, Washington, [1964?]

PODER COAGULANTE DO COALHO

1. Princípio

Fundamenta-se na determinação do tempo de coagulação de um volume de leite, à 35 °C, por uma quantidade de coalho conhecida, baseada na propriedade que tem a quimosina do coalho de desdobrar a caseína do leite.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Cronômetro.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Balão de fundo chato de 250 mL;

Pipeta volumétrica de 1 mL;

Provetas de 100 mL.

2.3. Reagentes:

Solução de cloreto de sódio (NaCl) a 7 %;

Solução de coalho líquido: transferir 10 mL da amostra para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com a solução de cloreto de sódio a 7 %;

Solução de coalho em pó: pesar 1 g de amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Dissolver e completar o volume com a solução de cloreto de sódio a 7 %.

3. Procedimento

Transferir 100 mL de leite in natura de boa qualidade para um balão de 250 mL. Levar ao banho-maria mantido a exatamente 35 oC. Adicionar volumetricamente 1 mL da solução de coalho preparada.

Acionar o cronômetro quando a solução de coalho tiver sido colocada. Girar vagarosamente o balão até o aparecimento dos primeiros grumos na parede do frasco. Interromper o cronômetro e anotar o tempo em segundos. Realizar três provas. Considerar a média de duas provas cujos tempos não variem mais de 10 segundos entre si.

4. Cálculos

Poder coagulante = $V \times 2400 t$

Onde:

V = volume de leite utilizado na prova, em mL, multiplicado por 10 (coalho líquido) ou por 100 (coalho em pó);

2400 = tempo em segundos gasto para coagular 100 mL de leite cru com coalho padrão (teoricamente);

t = tempo em segundos gasto para coagular 100 mL de leite cru, usando a solução de coalho em exame.

BIBLIOGRAFIA:

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Coalho. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 20, p. 1-2 modificado MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Leites, creme de leite e coalho In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.

ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, cap.15, p. 229-230.

ROSELL, J. M.; GOMEZ, J. Manual de análisis lactológicos y fabricación de quesos y mantecas. La Coruña: Trofos, 1960.

SILVA, P.H.F. et al. Físico-química do leite e derivados:

métodos analíticos. Juiz de Fora. MG: Oficina de Impressão, 1997.190 p.

PONTO DE FUSÃO

Método A: Tubo capilar

1. Princípio

Fundamenta-se na propriedade da gordura de passar do estado sólido ao líquido em determinada faixa de temperatura, dependendo da sua composição em ácidos graxos.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Estufa;

Placa aquecedora com agitador magnético;

Refrigerador.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béqueres de 250 e 1000 mL;

Funil;

Papel de filtro qualitativo;

Termômetro certificado com resolução de 0,1 °C e escala de leitura de 0 a 50 °C;

Termômetro certificado com resolução de 1 °C e escala de leitura de 0 a 100 °C;

Tubo capilar aberto de 1 x 100 mm;

Tubo de ensaio de aproximadamente 50 x 150 mm, ou tubo de Tiehle.

3. Procedimento

Pesar cerca de 50 g da amostra, fundir em estufa a 45 - 50 °C e filtrar com papel de filtro qualitativo. Introduzir a gordura fundida e filtrada em tubo capilar aberto de 1x100 mm, formando uma coluna de 1 a 2 cm de altura. Deixar em refrigerador por 4 a 6 horas para solidificar. Aquecer um béquer com água até que a temperatura alcance cerca de 10 °C abaixo do ponto de fusão da amostra.

Colocar, em um tubo de Tiehle, o capilar contendo a gordura, preso ao termômetro por um anel de borracha, ficando a coluna da amostra na altura do bulbo do termômetro e o tubo totalmente coberto pelo banho. Continuar o aquecimento de modo que a temperatura aumente 0,5 °C por minuto. Anotar a temperatura na qual a gordura se torna inteiramente transparente. Manter a água do béquer sob constante agitação durante a determinação. Repetir a determinação até que se repita o ponto de fusão ou efetuar a média de duas determinações próximas, desde que não apresentem diferenças superiores a 1 °C.

Observação: O ponto de fusão poderá também ser determinado em aparelho para determinação de ponto de fusão, obedecendo as instruções de cada equipamento.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Banha. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 8, p. 5-6.

FIRESTONE, D. Oils and fats. In: HELRICH, K. (Ed.).

Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants. 15th ed.

Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, cap. 41, p. 953-954

PONTO DE FUSÃO

Método B: Wiley

1. Princípio

Fundamenta-se na propriedade das gorduras de passarem para o estado líquido em determinada faixa de temperatura, dependendo da sua composição em ácidos graxos.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Banho-maria;

Estufa 45 - 50 °C;

Placa aquecedora com agitador magnético;

Refrigerador.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer de 1000 mL;

Garras metálicas;

Haste metálica de + 60 cm;

Pipeta graduada de 10 mL;

Placa de Wiley: constituída de duas partes, uma placa quadrada de alumínio de 10x10 cm de lado e 0,3 cm de espessura com 9 orifícios circulares de 1 cm de diâmetro aproximadamente e uma placa retangular de aço inox com 1 cm de espessura e 15 cm de comprimento por 10 cm de largura;

Termômetro certificado com resolução de 0,1 °C e escala de leitura de 0 - 50 °C;

Termômetro certificado com resolução de 1 °C e escala de leitura de 0 - 100 °C;

Tubo de vidro com aproximadamente 40 mm e 150 - 200 mm de comprimento (tubo teste).

2.3. Reagentes:

Mistura álcool-água: ferver separadamente a água e o álcool etílico (C₂H₅OH) p.a. por 10 minutos para eliminar os gases dissolvidos.

Encher o tubo teste até a metade com água quente e então adicionar o álcool quente, inclinando o tubo para evitar que se misture muito. A adição do álcool após a água ter esfriado pode resultar na formação de bolhas que tornará a solução imprópria para uso.

3. Procedimento

Pesar cerca de 50 g da amostra, fundir em estufa a 45 - 50 °C e filtrar com papel de filtro qualitativo. As placas de aço inox e alumínio antes de serem usadas devem ser colocadas em refrigerador para estarem completamente frias. Colocar a placa de alumínio sobre a placa de aço inox e encher os furos da placa de alumínio com a amostra fundida com auxílio de uma pipeta. Retornar o conjunto ao refrigerador durante pelo menos duas horas para esfriar completamente.

Remover o excesso de gordura da placa de alumínio. Retirar o disco de gordura solidificada e colocar na mistura de álcool-água contida no tubo teste, previamente esfriado em água e gelo pelo menos a 10 °C abaixo do ponto de fusão da amostra. O disco cairá até o ponto onde sua densidade é equivalente á da mistura álcool-água.

Paralelamente fazer um banho-maria utilizando um béquer de 1.000 mL e adaptar através de garras metálicas, o tubo teste dentro do banho, utilizando-se de um agitador magnético para agitação do mesmo.

Inserir o termômetro no tubo teste até que o bulbo esteja na mesma altura do disco da gordura. Girar o termômetro devagar em volta do disco para manter uniforme a temperatura enquanto é aplicado calor sobre o béquer. Aquecer a água lentamente e manter a agitação. Enquanto a temperatura da mistura álcool-água aumenta, o disco de gordura gradualmente vai mudando de forma. Quando isto acontece,

baixar o termômetro até que o centro do bulbo esteja junto do disco. Continuar girando o termômetro e regular então o calor de modo que a temperatura aumente 2 °C em 10 minutos. Observar a temperatura na qual o disco de gordura torna-se completamente esférico.

Este é o ponto de fusão de Wiley. Neste ponto a temperatura da água do béquer não deve ser mais que 1,5 °C acima do ponto de fusão da amostra. A primeira determinação é apenas preliminar para estabelecer uma faixa das condições necessárias. Repetir mais duas determinações exatamente como descrito. O segundo e terceiro resultados não devem diferir de 1 °C para serem levados em consideração.

Se o disco de gordura encostar nos lados do tubo o teste deve ser repetido. O ponto de fusão poderá também ser determinado em aparelho para esta determinação, observando as instruções de cada equipamento.

BIBLIOGRAFIA

FIRESTONE, D. Oils and fats. In: HELRICH, K. (Ed.).

Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants. 15th ed.

Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. v. 2, cap. 41, p. 953-954 MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

RESÍDUO MINERAL FIXO

1. Princípio

Fundamenta-se na eliminação da matéria orgânica a temperatura de 550 °C. O produto obtido é denominado de resíduo mineral fixo.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria ou placa aquecedora;

Forno mufla.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bico de Bunsen;

Cadinho de porcelana, platina ou níquel;

Dessecador;

Pipeta graduada de 1 mL;

Pipeta volumétrica de 20 mL;

Tenaz metálica.

2.3. Reagente:

Água oxigenada (H₂O₂) a 3 % (10 volumes) (v/v).

3. Procedimento

Aquecer o cadinho de porcelana, platina ou níquel em forno mufla a 550 °C durante 30 minutos, esfriar em dessecador e tarar.

Pesar em balança analítica a amostra homogeneizada diretamente no cadinho, conforme os itens 3.1. e 3.2.. Levar o conjunto ao bico de Bunsen até a carbonização completa e a seguir ao forno mufla no máximo a 550 °C, para evitar perda de cloretos. Incinerar por 3 horas ou até obter cinzas totalmente brancas. Esfriar em dessecador e pesar.

Não havendo clareamento das cinzas, adicionar 2 a 3 gotas de água ou água oxigenada, secar em placa aquecedora ou estufa à 105 °C e levar ao forno mufla por tempo suficiente para clareamento das cinzas (aproximadamente 1 hora). Esfriar em dessecador e pesar.

3.1. Leite Fluído: pesar cerca de 5 g de amostra diretamente no cadinho. Para posterior determinação de alcalinidade das cinzas, pesar 20 g da amostra. Secar em banho-maria ou evaporar em placa aquecedora antes de carbonizar em bico de Bunsen;

3.2. Leite desidratado, soro de leite em pó, queijo, doce de leite, leite condensado, leite fermentado, creme de leite: pesar exatamente cerca de 5 g da amostra.

4. Cálculos

$$\% \text{ cinzas} = (m_2 - m_1) \times 100 / m_0$$

Onde:

m_2 = massa do cadinho com amostra após incineração, em gramas;

m_1 = massa do cadinho vazio, em gramas;

m_0 = massa da amostra, em gramas.

Observação: Reservar o resíduo mineral fixo do creme de leite, leite em pó e soro de leite em pó, para determinar alcalinidade das cinzas, e do queijo para determinação de cloretos.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Salsicharia. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 2, p. 3.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

SÓLIDOS TOTAIS PARA LEITE FERMENTADO

1. Princípio

Evaporação da água da amostra, na presença de óxido de zinco, à temperatura de 102 ± 2 °C em estufa de secagem. Determinação do teor de ácido láctico visando compensar a perda de água pela neutralização.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria ou banho de vapor;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro com uma extremidade achatada e de tamanho adequado à cápsula;

Cápsula de aço inoxidável, níquel ou alumínio, com 50 - 75 mm de diâmetro e 20 - 25 mm de altura, com tampa removível;

Dessecador;

Espátula;

Tenaz metálica.

2.3. Reagente:

Óxido de zinco.(ZnO)

3. Procedimento

Aquecer a cápsula aberta em estufa $102 \pm 20^\circ\text{C}$ por 1 hora, contendo 2 g de óxido de zinco. Ao seu lado, colocar a tampa e sobre esta o bastão de vidro. Colocar a tampa com o bastão de vidro sobre a cápsula e transferir imediatamente para dessecador. Esfriar no mínimo por 45 minutos e pesar a cápsula com a tampa e o bastão.

Mover o óxido de zinco para o lado da cápsula e adicionar cerca de 1 g da amostra. Tampar a cápsula com bastão sobre a tampa e pesar.

Adicionar 5 mL de água à amostra se necessário, misturando todo o conteúdo da cápsula. Apoiar a extremidade reta do bastão sobre a borda da cápsula. Aquecer a cápsula em fluxo de vapor, durante cerca de 30 minutos, com ocasional agitação, através de bastão. Secar rapidamente o fundo da cápsula com papel absorvente, deixar o bastão dentro da cápsula e levar o material para estufa por 3 horas, mantendo a tampa ao lado de sua respectiva cápsula. Cobrir a cápsula e levar imediatamente para dessecador e aguardar 45 minutos. Pesar e repetir o procedimento de aquecimento na estufa por mais 1 hora.

Repetir o procedimento até que a diferença entre as pesagens não exceda 1 mg. Determinar o teor de ácido láctico da amostra.

4. Cálculos

$$\% \text{ de sólidos totais} = \left\{ \frac{(m_2 - m_0) \times 100}{(m_1 - m_0)} \right\} + (0,1 \times A)$$

Onde:

m_0 = massa em grama da cápsula + óxido de zinco + tampa + bastão;

m_1 = massa em grama da cápsula + óxido de zinco + tampa + bastão + amostra;

m_2 = massa em grama da cápsula + óxido de zinco + tampa + bastão + amostra dessecada;

A = massa em grama de ácido láctico, obtido na acidez.

Expressar o resultado com precisão de 0,01.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 151:1991: yogurt: determination of total solids content. Brussels, 1991. 2 f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

UMECTABILIDADE DO LEITE EM PÓ INSTANTÂNEO

1. Princípio

Uma alíquota da amostra é uniformemente espalhada na superfície da água ajustada a 25 °C. Obtém-se o tempo de molhagem quando todas as partículas da amostra tornam-se umedecidas, isto é, tenham submergido, e uma eventual quantidade residual de partículas que permaneça na superfície apresente o aspecto úmido.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Cronômetro de 60 segundos, com marcações destacadas a intervalos de 5 segundos e sub-divisões de 1 segundo e 0,5 segundo, ou menor.

2.2 Vidrarias, utensílios e outros:

Béquer (com bico) de 600 mL, diâmetro extern^o 90 + 2 mm e altura média de 126 + 3 mm, graduado a 150 e 250 mL, com a borda formando um plano horizontal paralelo ao da base;

Espátula com formato de colher;

Espátula de aço inoxidável com 1 mm de espessura, comprimento total de 250 mm, comprimento da lâmina de 135 mm e largura da lâmina de 25 mm;

Frasco com tampa que permita vedação hermética e com capacidade de 2 vezes superior ao volume da amostra;

Pincel de pelos;

Placa de vidro com 120 x 120 mm de lado e 2,5 cm de espessura com bordas esmerilhadas;

Suporte para tubos de vidro com base metálica;

Termômetro;

Tubo de vidro com comprimento de 65 mm, diâmetro externo de 80 + 1,8 mm, espessura da parede de 2,5 + 0,3 mm, sem fundo, com extremidades esmerilhadas paralelas formando ângulos retos com eixo longitudinal.

3. Procedimento

Transferir cuidadosamente uma porção de leite em pó instantâneo para um frasco com tampa hermética e com capacidade 2 vezes superior ao volume da amostra. Misturar cuidadosa e totalmente toda a amostra por inversão e rotação do frasco. A amostra deverá permanecer a temperatura do laboratório por no

mínimo 48 horas. Tornar a misturar suave e cuidadosamente, através de inversão e rotação do frasco hermético por algumas poucas vezes. Pesar uma alíquota de $10 + 0,1$ g da amostra de leite em pó integral ou desnatado instantâneo. Conduzir o teste em triplicata. Pesar $250 + 0,1$ g de água a $25 + 1$ °C em um béquer de 600 mL, tendo o cuidado para que a parte interna do béquer acima do nível da água permaneça seca.

Colocar o béquer na base do suporte do tubo de vidro. Colocar a placa de vidro centralizada sobre o béquer e instalar o tubo de vidro sobre a placa fixando-o de tal forma que fique centralizado sobre o béquer e que deixe a placa de vidro livre o suficiente para ser retirada. Transferir a porção pesada da amostra para o tubo de vidro, usando a escova se necessário e distribuir a amostra uniformemente sobre a placa de vidro com a ajuda da espátula. Acionar o cronômetro e, após exatamente um minuto, retirar a placa de vidro com uma das mãos, segurando o béquer com a outra de modo que a amostra caia progressivamente sobre a superfície da água contida no béquer. A retirada da placa deve ser conduzida através de movimento contínuo e suave, sendo concluída dentro de aproximadamente 2,5 segundos.

Remover imediatamente o béquer debaixo do tubo e, deixar em repouso.

Assim que todas as partículas tenham submergido, interromper o cronômetro e anotar o tempo, em segundos.

4. Cálculos

$$W = W' - 60$$

Onde:

W = tempo de molhagem, em segundos.

W' = tempo cronometrado, em segundos.

Recomenda-se que os valores das triplicatas, assim como a sua média, sejam indicados na expressão dos resultados.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 87: 1979: determination of the dispersibility of instan dried milk. Brussels, 1987. 4 f.

UMIDADE E VOLÁTEIS, GORDURA E SÓLIDOS NÃO GORDUROSOS NA MANTEIGA

Método A

1. Princípio

Fundamenta-se na perda de massa da amostra por evaporação da água e substâncias voláteis, na solubilidade da gordura em éter etílico e na insolubilidade das proteínas, lactose, sais minerais e orgânicos, componentes normais da manteiga, neste solvente.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Béquer ou copo de alumínio de 250 mL;

Dessecador;

Pinça ou tenaz metálico;

Proveta de 25 mL.

2.3. Reagente:

Éter etílico (C₄H₁₀O) p.a. anidro e livre de peróxidos, ou n-hexano (C₆H₁₄) p.a..

3. Procedimento

Determinação do teor de umidade:

Colocar o béquer em estufa a 102 ± 2 °C durante 1 hora.

Esfriar em dessecador e pesar. Pesar exatamente cerca de 5 g da amostra previamente preparada e levar a estufa 102 ± 2 °C durante 2 horas, esfriar e pesar. Retornar à estufa por mais 1 hora, esfriar e pesar. Repetir esta operação de 30 em 30 minutos até massa constante.

Determinação de sólidos não gordurosos:

Usar o resíduo obtido na determinação do teor de umidade e adicionar 15 mL de éter etílico p.a. ou n-hexano p.a.. Homogeneizar bem com movimentos circulares deixando sedimentar por alguns minutos.

Desprezar a camada de solvente, cuidando para não haver perdas do resíduo. Lavar mais 2 vezes (ou mais se necessário) com 15 mL do solvente, deixando sedimentar a cada vez e desprezando o sobrenadante.

Levar o copo contendo o sedimento ao banho-maria para evaporar o solvente residual e em seguida secar em estufa a 102 ± 2 °C por 30 minutos. Esfriar e pesar. Repetir a operação de secagem até massa constante ou mínima. Reservar o resíduo para determinação de cloretos.

Determinação do teor de gordura:

Determinar o teor de gordura por diferença, subtraindo de 100% os teores de umidade e sólidos não gordurosos (SNG).

4. Cálculos

4.1. Umidade e voláteis:

$$\% \text{ Umidade} = m \times 100 m'$$

Onde:

m = a perda de massa, em gramas;

m' = massa da amostra, em gramas.

4.2. Sólidos não gordurosos:

$$\% \text{ SNG} = m \times 100 m'$$

Onde:

m = massa dos insolúveis, em gramas;

m' = massa da amostra, em gramas.

4.3. Gordura:

% Gordura = 100 - (% Umidade + % SNG)

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Manteiga. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos.

Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 21, p. 1.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

UMIDADE E VOLÁTEIS, GORDURA E SÓLIDOS NÃO

GORDUROSOS NA MANTEIGA

Método B

1. Princípio

Baseia-se na determinação da perda de massa de água e substâncias voláteis através de secagem de uma massa conhecida de manteiga a 102 ± 2 °C, seguida de uma extração da gordura da amostra dessecada, através de solventes e pesagem do resíduo.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Cadinhos com filtro de vidro sinterizado, grau de porosidade p 40 (diâmetro dos poros de 16 a 40 mm), com frasco de sucção;

Copos ou frascos de vidro, porcelana ou metal resistente a corrosão, com no mínimo 25 mm de altura e 50 mm de diâmetro;

Dessecador;

Tenaz metálica.

2.3. Reagentes:

n-Hexano (C₆H₁₄) p.a., ou éter de petróleo (P.E.= 30 a 60 oC) p.a.. O reagente não deverá deixar mais de 1 mg de resíduo após evaporação de 100 mL.

3. Procedimento

Determinação do teor de umidade:

Colocar o copo em estufa a 102 + 2 °C, durante 1 hora.

Esfriar em dessecador e pesar. Pesar exatamente cerca de 2 a 6 g da amostra (ou de 5 a 6 g para manteiga sem sal). Colocar o copo com a amostra em estufa a 102 + 2 °C por 2 horas. Transferir para dessecador, deixar esfriar e pesar. Repetir a secagem por mais 1 hora e posteriormente por mais 30 minutos, até massa constante. (considerar o menor valor obtido quando ocorrer eventual aumento da massa).

Determinação de Sólidos não Gordurosos (SNG):

Secar um cadinho com filtro de vidro sinterizado por no mínimo 1 hora em estufa a 102 + 2 °C, esfriar em dessecador e pesar.

Adicionar 10 a 15 mL de n-hexano aquecido a 25 oC ou éter de petróleo ao frasco onde se realizou a determinação do teor de umidade.

Com auxílio de um bastão, deslocar o material aderido à parte interna do copo e transferir quantitativamente para o cadinho com filtro de vidro sinterizado. Repetir de 4 a 5 vezes a extração. Lavar o sedimento no cadinho com 25 mL de solvente. Transferir para estufa o cadinho e o copo de onde foi extraído o sedimento e secar ambos a 102 + 2 °C por 30 minutos. Transferir para dessecador, esfriar e pesar. Repetir as operações de secagem e pesagem até massa constante.

4. Cálculos

$$\% \text{ Umidade} = [(M1 - M2) / (M1 - MO)] \times 100$$

Onde:

Mo = massa do copo vazio, em gramas;

M1 = massa do copo com a amostra antes da secagem, em gramas;

M2 = massa do copo com a amostra após secagem, em gramas.

$$\% \text{ SNG} = \{[(M4 - M3) + (M5 - MO)] / (M1 - MO)\} \times 100 \text{ Onde:}$$

MO = massa do copo vazio, em gramas;

M1 = massa do copo com a amostra antes da secagem, em gramas;

M3 = massa do cadinho vazio, em gramas;

M4 = massa do cadinho contendo o sedimento após secagem, em gramas;

M5 = massa final do copo de onde foi extraído o sedimento, em gramas.

$$\% \text{ Gordura} = 100 - (\% \text{ Umidade} + \% \text{ SNG})$$

Observação: A diferença entre os resultados de duas determinações, conduzidas simultaneamente ou em rápida sucessão pelo mesmo analista, não deverá exceder a 0,1g de água ou 0,1g de SNG por 100 g de

amostra.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 80: 1977: butter: determination of water, solids now fat and fat contents on the same test portion Brussels, 1977. 2 f.

MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

UMIDADE E VOLÁTEIS E SÓLIDOS TOTAIS

Método A

1. Princípio

A umidade é determinada pela perda de massa em condições nas quais, água e substâncias voláteis são removidas. O resíduo obtido após evaporação representa os sólidos totais da amostra.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Placa aquecedora;

Estufa.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Bastão de vidro;

Béquer de 100 mL;

Dessecador;

Espátula;

Pérolas de vidro com 3 mm de diâmetro;

Pesa filtro ou cápsula de alumínio, aço inox, porcelana ou níquel;

Tenaz metálico.

3. Procedimento

Colocar a cápsula, em estufa a 102 ± 2 °C durante 1 hora.

Esfriar em dessecador e pesar. Pesar a amostra preparada e homogeneizada e levar à estufa conforme os itens 3.1. a 3.6.. Esfriar em dessecador e pesar. Repetir até massa constante. As operações de pesagem devem ser feitas o mais rápido possível e a secagem deve ser conduzida sem que haja escurecimento da amostra.

3.1. Leite em pó e soro de leite em pó:

Massa da amostra: 5 g;

Temperatura da estufa: $85 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$;

Tempo até a primeira pesagem: 2 horas;

Tempo, na estufa, entre pesagens até massa constante: 30 minutos.

3.2. Doce de leite e leite condensado:

Massa da amostra 3 g em cápsulas contendo pérolas e bastão de vidro previamente dessecados;

Temperatura da estufa: $85 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$;

Tempo até a primeira pesagem: 6 horas;

Tempo, na estufa, entre pesagens até massa constante: 1 hora.

3.3. Creme de leite:

Massa da amostra: 5 g em cápsula com pérolas de vidro;

Temperatura da estufa: $102 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$;

Tempo até a primeira pesagem: 2 horas;

Tempo, na estufa, entre pesagens até massa constante: 30 minutos.

3.4. Queijo.

Massa da amostra: 5 g:

Temperatura da estufa: $102 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$;

Tempo até a primeira pesagem: 3 horas;

Tempo, na estufa, entre pesagens até massa constante: 1 hora.

3.5. Manteiga e Margarina:

Massa da amostra: 5 g em béquer;

Temperatura da estufa: $102 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$;

Tempo até a primeira pesagem: 3 horas (agitar por rotação o béquer para eliminar as bolhas);

Tempo, na estufa entre pesagens até massa constante: 30 minutos.

3.6. Leite fermentado:

Massa da amostra: 5 g em cápsula contendo pérolas de vidro;

Temperatura da estufa $102 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$;

Tempo até a primeira pesagem: 4 horas;

Tempo, na estufa, entre pesagens até massa constante: 1 hora.

4. Cálculos % umidade e voláteis = $100 \times m/m'$

% sólidos totais = 100 - % umidade e voláteis

Onde:

m = perda de massa em gramas;

m' = massa da amostra em gramas.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Leite em pó e soro de leite em pó. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes:

métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 15, p. 1. modificado quanto a massa das amostras e o tempo de trabalho.

UMIDADE E VOLÁTEIS E SÓLIDOS TOTAIS

Método B

1. Princípio

O teor de sólidos totais é determinado através da evaporação da água da amostra, na presença de areia, a uma temperatura determinada em estufa de secagem.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Banho-maria;

Estufa;

Processador de amostra.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Areia de quartzo ou praia: que passe através de uma peneira com malha de 500 μ m e retida em malha de 180 μ m. Submeter a areia ao seguinte teste: colocar aproximadamente 20 g de areia na cápsula com o bastão de vidro. Aquecer a cápsula aberta com a areia, bastão de vidro e a tampa, à temperatura de 102 ± 1 °C, no mínimo por 2 horas. Tampar a cápsula, esfriar em dessecador e pesar. Umedecer a areia com aproximadamente 5 mL de água, misturando o conteúdo da cápsula e levar à estufa a 102 ± 1 °C, no mínimo por 4 horas. Pesquisar, sendo que a diferença entre as duas pesagens não deverá exceder a 0,5 mg. Nota: se o resultado do teste utilizado acima não for satisfatório, fazer o seguinte procedimento: colocar a areia em solução de ácido clorídrico a 25 % (m/m) por 3 dias, agitando ocasionalmente.

Descartar o sobrenadante o tanto quanto for possível.

Lavar a areia com água até que a reação ácida desapareça. Aquecer a areia a 160 °C, no mínimo por 4 horas. Submeter a areia ao teste da peneira, conforme descrito anteriormente.

Bastão de vidro com uma extremidade achatada e adaptado à cápsula;

Cápsulas de aço inoxidável, níquel ou alumínio, com diâmetro de 50 - 75 mm, altura de 20 - 25 mm e com tampas facilmente removíveis;

Dessecador;

Tenaz metálica.

3. Procedimento

Aquecer a cápsula contendo aproximadamente 25 g de areia, com a tampa ao lado e bastão sobre a tampa em estufa de secagem a 102 ± 1 °C durante 1 hora. Tampar a cápsula, colocar o bastão de vidro sobre a tampa, levar para dessecador e esfriar no mínimo por 45 minutos. Pesar a cápsula com a tampa e o bastão. Deslocar a areia para um lado da cápsula e adicionar a amostra conforme os itens 3.1.

e 3.2.. Recolocar a tampa com bastão de vidro sobre essa e pesar.

Misturar completamente a amostra com areia, espalhando por toda a superfície da cápsula. A mistura da areia com queijos duros pode ser facilitada pela adição de, aproximadamente, 3 mL de água. Para doce de leite adicionar 5 mL de água a amostra já pesada e misturar o conteúdo com o bastão, distribuindo uniformemente. Deixar o bastão apoiado sobre a borda da cápsula. Aquecer em fluxo de vapor produzido por banho-maria, por aproximadamente 30 minutos, agitando a mistura freqüentemente nos primeiros estágios de secagem de maneira que a amostra fique bem desagregada pela areia. Aquecer a cápsula com o bastão apoiado em sua borda e ao lado a tampa, em estufa a $102 + 1$ °C, durante 2 horas. Tampar a cápsula, esfriar em dessecador por no mínimo 45 minutos e pesar. Repetir a operação de secagem, conforme descrito anteriormente, durante 1 hora. Esfriar e pesar. Repetir essa operação até que a diferença entre duas pesagens sucessivas seja inferior a 0,5 mg para queijos e de 1 mg para doce de leite.

3.1. Queijos: pesar 3 g da amostra;

3.2. Doce de leite: pesar 5 g da amostra.

4. Cálculos

$$\% ST = (m_2 - m_0) \times 100 / (m_1 - m_0) \text{ nde}$$

ST = Sólidos Totais

m_0 = massa em gramas da cápsula + tampa + bastão + areia;

m_1 = massa em gramas da cápsula + tampa + bastão + areia + amostra;

m_2 = massa em gramas da cápsula + tampa + bastão + areia + amostra dessecada.

$$\% U = 100 - \% ST$$

Onde:

U = Umidade;

ST = Sólidos Totais.

Observação: com queijos que se fundem como uma massa cerácea é recomendável utilizar um banho de vapor ou água fervente, antes da amostra ser levada a estufa de secagem a 102 ± 10 C. O conteúdo da cápsula deve ser misturado completamente com bastão de vidro, para prevenir a formação de uma superfície endurecida.

Colocar o bastão dentro da cápsula, enxugando o fundo da mesma com papel absorvente. Transferir a cápsula com sua respectiva tampa para estufa de secagem a 102 ± 1 °C durante 2 horas.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 4A: 1982: chese and proceesed cheese: determination of the total solids content (reference method) Brussels, 1982. 2 f.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 15B: 1988:

sweetened condensed milk: determinarion of the total solids content (reference method). Brussels, 1988. 2 f.

UMIDADE E VOLÁTEIS E SÓLIDOS TOTAIS

Método C

1. Princípio

Secagem de uma alíquota da amostra, a uma temperatura determinada, até massa constante e pesagem para determinação da perda de massa de umidade e voláteis.

2. Material

2.1. Equipamentos:

Balança analítica;

Estufa com circulação de ar.

2.2. Vidraria, utensílios e outros:

Cápsulas de alumínio, vidro, aço inoxidável ou níquel, com cerca de 25 mm de profundidade e diâmetro de aproximadamente 50 mm, com tampa.

3. Procedimento

Aquecer a cápsula e a sua tampa separadamente em uma estufa a 102 ± 2 °C por 1 hora, colocar a tampa na cápsula, transferir para dessecador, esfriar até a temperatura ambiente e pesar. Transferir a amostra para cápsula conforme os itens 3.1. e 3.2., colocar a tampa e pesar. Destampar a cápsula e colocá-la, com sua tampa, na estufa. A tampa deverá ficar apoiada na borda da respectiva cápsula, formando um ângulo entre esta e a estante da estufa. Manter o material a 102 ± 2 °C, por 2 horas. Tampar a cápsula, transferir para dessecador, destampar e esfriar a cápsula contendo a amostra dessecada, mantendo a tampa em posição similar à que manteve na estufa. Transferir a cápsula para a balança, colocar sua tampa e anotar o peso.

3.1. Leite em pó: pesar de 1 a 3 g;

3.2. Queijo em pó: pesar de 1 a 3 g.

4. Cálculos

$$\% \text{ Umidade} = [(m_1 - m_2) / (m_1 - m_0)] \times 100$$

$$\% \text{ Sólidos Totais} = 100 - \% \text{ Umidade.}$$

Onde:

m_0 = massa da cápsula com sua tampa, em gramas;

m_1 = massa da cápsula com tampa + massa da alíquota da amostra, em gramas;

m_2 = massa da cápsula com tampa + massa dessecada da alíquota, em gramas.

BIBLIOGRAFIA

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 26A: 1993:

dried milk and dried cream: determination of water content Brussels, 1993. 2 f.

VI - SOLUÇÕES PADRÕES

SOLUÇÃO DE ÁCIDO CLORÍDRICO (HCl) 0,1 N

Preparo da solução padrão:

Medir 8,5 mL de ácido clorídrico p.a. e transferir para balão volumétrico de 1000 mL contendo 500 mL de água. Esfriar e completar o volume.

Fatoração com Tris (Hidroximetilaminometano):

Deixar o reativo Tris (Hidroximetilaminometano)

($C_4H_{11}NO_3$) p.a., padrão primário, por 24 horas em dessecador, ao abrigo da luz. Pesar exatamente cerca de 0,12114 g, adicionar 20 mL de água, acrescentar 3 gotas da solução de vermelho de metila a 0,2% (m/v) e titular com a solução de ácido clorídrico 0,1 N. Calcular o fator de correção usando, no mínimo, a média de três determinações.

Cálculos:

Fator de correção = m _____

$0,12114 \times V \times N$

Onde:

m = massa de Tris, em gramas;

V = volume da solução de ácido clorídrico 0,1 N gastos na titulação, em mL;

N = normalidade esperada da solução.

Fatoração com carbonato de sódio:

Pesar exatamente 5,299 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3) p.a., padrão primário, previamente seco a 270 °C por 1 hora. Dissolver em água destilada, transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume. Pipetar 20 mL da solução de carbonato de sódio e transferir para erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 3 gotas de vermelho de metila 0,1 % (m/v). Titular até a viragem para coloração rósea. Aquecer à ebulição, para eliminar o gás carbônico. Esfriar e prosseguir a titulação. Repetir esta operação até coloração rósea persistente.

Cálculos:

Fator de correção = m_____

$0,053 \times V \times N$

Onde:

m = massa do carbonato de sódio na alíquota usada, em gramas;

V = volume da solução de ácido clorídrico 0,1 N gastos na titulação, em mL;

N = normalidade esperada da solução.

SOLUÇÃO DE ÁCIDO SULFÚRICO (H₂SO₄) 0,1 N

Preparo da solução padrão:

Transferir 3,0 mL de ácido sulfúrico p.a. para balão volumétrico de 1000 mL contendo cerca de 500 mL de água. Esfriar e completar o volume.

Fatoração:

Deixar o reativo Tris (Hidroximetilaminometano) (C₄H₁₁NO₃) p.a., padrão primário, por 24 horas em dessecador, ao abrigo da luz. Pesar exatamente cerca de 0,12114 g, adicionar 20 mL de água, acrescentar 3 gotas da solução de vermelho de metila a 0,2% (m/v) e titular com a solução de ácido sulfúrico 0,1 N. Calcular o fator de correção usando, no mínimo, a média de três determinações.

Cálculos:

Fator de correção = m_____

$0,12114 \times V \times N$

Onde:

m = massa de Tris, em gramas;

V = volume da solução de ácido sulfúrico 0,1 N gastos na titulação, em mL;

N = normalidade esperada da solução.

SOLUÇÃO DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO (NaOH) 0,1 N

Preparo da solução estoque de hidróxido de sódio:

Preparar uma solução de hidróxido de sódio (1+1) com água recentemente fervida e acondicionar em frasco de polietileno. Deixar decantar os carbonatos por cerca de 10 dias.

Preparo da solução padrão:

Transferir 5,4 mL do sobrenadante da solução estoque de hidróxido de sódio para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com água recentemente fervida e resfriada.

Fatoração:

Pesar exatamente cerca de 0,5 g de biftalato de potássio (C₈H₅KO₄) p.a., padrão primário, previamente seco em estufa a 105 °C por 1 hora. Transferir para erlenmeyer de 250 mL e dissolver em 75 mL de água recentemente fervida. Adicionar 2 gotas da solução de fenolftaleína a 1 % (m/v) e titular com solução de

hidróxido de sódio 0,1 N. Calcular o fator de correção usando, no mínimo, a média de três determinações.

Cálculos:

Fator de correção = m _____

$0,2042 \times V \times N$

Onde:

m = massa de biftalato de potássio, em gramas;

V = volume de solução padrão de hidróxido de sódio gastos na titulação, em mL;

N = normalidade esperada da solução.

SOLUÇÃO DE NITRATO DE PRATA (AgNO_3) 0,1 N

Preparo da solução padrão:

Pesar 17 g de nitrato de prata p.a. e transferir para balão volumétrico âmbar de 1000 mL com rolha esmerilhada e completar com água. Fatoração:

Pesar exatamente cerca de 0,15 g de cloreto de sódio (NaCl) p.a., padrão primário, previamente seco a 110°C por 1 hora, para erlenmeyer de 100 mL e adicionar cerca de 25 mL de água e 1 mL de solução de cromato de potássio (K_2CrO_4) a 5% (m/v) como indicador.

Titular com a solução de nitrato de prata 0,1 N até o aparecimento de cor castanha avermelhada. Calcular o fator de correção usando, no mínimo, a média de três determinações.

Cálculos:

Fator de correção = m _____

$0,0585 \times V \times N$

Onde:

m = massa de cloreto de sódio, em gramas;

V = volume de solução de nitrato de prata gastos na titulação, em mL;

N = normalidade esperada da solução.

SOLUÇÃO DE PERMANGANATO DE POTÁSSIO

(KMnO_4) 0,05 N

Preparo da solução padrão:

Dissolver 1,6 g de permanganato de potássio p.a. em béquer contendo aproximadamente 300 - 400 mL de água e aquecer a $60 - 70^\circ\text{C}$ por 2 horas. Esfriar, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume e homogeneizar. Deixar em repouso por 72 horas ao abrigo da luz. Filtrar em cadinho de vidro sinterizado ou cadinho de porcelana com amianto ou lã de vidro e estocar em frasco âmbar.

Fatoração:

Pesar exatamente 3,35 g de oxalato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) p.a.

previamente seco em estufa a $105\text{ }^\circ\text{C}$ por 2 horas. Dissolver em béquer com aproximadamente 100 mL de água destilada, transferir para balão volumétrico de 1000 mL, homogeneizar e completar o volume.

Pipetar 20 mL da solução de oxalato de sódio, transferir para erlenmeyer de 250 mL, adicionar 10 mL de solução de ácido sulfúrico (1+1), aquecer a $70 - 80\text{ }^\circ\text{C}$ e titular nessa temperatura gotejando a solução de permanganato de potássio 0,05 N numa velocidade de 3 a 4 gotas por segundo até coloração levemente rósea persistente por 30 segundos.

Cálculos:

Fator de correção = m _____

$V \times 67,00 \times N$

Onde:

m = massa de oxalato de sódio na alíquota, em miligramas;

V = volume da solução de permanganato de potássio gastos na titulação, em mL;

N = normalidade esperada da solução.

SOLUÇÃO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO

($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0,1 N

Preparo da solução padrão:

Pesar 25 g de tiosulfato de sódio pentahidratado p.a. e transferir para o balão volumétrico de 1000 mL, com água recentemente fervida e resfriada. Adicionar 0,01 g de iodeto de mercúrio II (HgI_2) p.a. para estabilizar a solução, completar o volume e acondicionar em frasco âmbar.

Fatoração:

Pesar exatamente cerca de 0,15 g de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) p.a., padrão primário, previamente seco em estufa a $140 - 150\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 hora e transferir para erlenmeyer de 500 mL com rolha esmerilhada. Lavar as paredes do frasco com água fria, previamente fervida e elevar o volume a 100 mL. Adicionar 5 g de iodeto de potássio (KI) p.a., agitar até dissolver e adicionar 5 mL de ácido clorídrico (HCl) 6 N. Tampar o frasco e agitar. Deixar em repouso por 5 minutos, fechado e em ausência de luz.

Adicionar mais 100 mL de água fria, recentemente fervida, lavando cuidadosamente as paredes do frasco e titular o iodo liberado com solução de tiosulfato de sódio 0,1 N até coloração amarelo claro. Adicionar 2 mL de solução de amido ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$)_n a 1 % (m/v) e continuar a titulação até a coloração mudar de azul esverdeado para verde pálido. Calcular o fator de correção usando, no mínimo a média de três determinações.

Cálculos:

Fator de correção = m _____

$0,049 \times V \times N$

Onde:

m = massa de dicromato de potássio, em gramas;

V = volume da solução de tiosulfato de sódio gastos na titulação, em mL;

N = normalidade esperada da solução.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO.;

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL.; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL(antiga ANFAR).; COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL.Métodos analíticos In _____.Compêndio brasileiro de alimentação animal. São Paulo: Sindirações- Anfal,1998.p.45-48.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Métodos físicos e químicos. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes:

métodos físicos e químicos. Brasília, DF, 1981. v. II.

MERCK. Indicadores ácidos e bases. [S. l.], [data] (catálogo) MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

MORITA, T.; ASSUMPCÃO, R, M. V. Manual de soluções reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação. 2. ed.

São Paulo: E. Blucher, 1976, c 1972. 627 p.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (USA). Merck volumetric standard: 1.02408 tris (hydroxymethyl) - aminomethane Batch No. 72408A. Darmstadt.: Merck, 1997. Certificate of Analysis OHWEILER, O. A. Química analítica quantitativa. 2. ed. Rio de Janeiro: Livros técnicos e científicos. 1976. v. 2, 664 p.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1.

VOGEL, A. I. Análise inorgânica quantitativa: Incluindo análise instrumental elementar. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1981. 690 p.

VII - SOLUÇÕES TAMPÕES

SOLUÇÃO TAMPÃO PH 4 DE BIFTALATO DE POTÁSSIO (C₈H₅KO₄) 0,05 M pH 4,00 (20 °C); 4,01 (25 °C) e 4,02 (30 °C).

Preparo da solução tampão:

Secar o biftalato de potássio em estufa a 110 °C por 2 horas.

Esfriar em dessecador e pesar 10,12 g. Dissolver em água, transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume.

SOLUÇÃO TAMPÃO PH 7 DE FOSFATO EQUIMOLAR 0,25 M pH 6,88 (20 °C); 6,86 (25 °C) e 6,85 (30 °C).

Preparo da solução tampão:

Secar o dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4) e o hidrogenofosfato dissódico (Na_2HPO_4) em estufa a 110 - 130 °C por 2 horas e esfriar em dessecador. Pesar 3,387 g de dihidrogenofosfato de potássio e 3,533 g de hidrogenofosfato dissódico. Dissolver em água, transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume.

BIBLIOGRAFIA

HELRICH, K. (Ed.). Standard solutions and certified reference.

In: _____. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants. 15th ed. Arlington: Association of official analytical chemists, 1990. v. 2, p. 640-641. Appendix.

VIII - SOLUÇÕES INDICADORAS

SOLUÇÃO DE AMIDO ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$)_n a 1 % (m/v) Preparo da solução indicadora:

Pesar 1 g de amido p.a. e transferir para béquer de 250 mL, adicionar cerca de 15 mL de água para formar uma pasta. Acrescentar água fervente suficiente para completar 100 mL mantendo em ebulição até resultar uma solução transparente. Esfriar. Usar sempre uma solução recentemente preparada.

SOLUÇÃO DE AZUL DE METILENO

($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}\cdot x\text{H}_2\text{O}$) a 1 % (m/v) Preparo da solução indicadora:

Pesar 1 g de azul de metileno p.a., dissolver em água e completar o volume a 100 mL.

SOLUÇÃO DE AZUL DE TIMOL ($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_5$) a 1 % (m/v)

Preparo da solução indicadora:

Pesar 1,0 g de azul de timol p.a., adicionar 21,5 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N e triturar para solubilizar.

Completar o volume a 100 mL com água. Intervalo de viragem: pH 8,0 a 9,6 passando do amarelo para o azul.

SOLUÇÃO DE FENOLFTALEÍNA ($\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$) a 1 % (m/v)

Preparo da solução indicadora:

Pesar cerca de 1 g de fenolftaleína p.a. e dissolver em 100 mL de solução de álcool etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) a 95 % (v/v). Conservar sob refrigeração. Intervalo de viragem: pH 8,2 a 9,8, passando de incolor a vermelho.

SOLUÇÃO DE LUGOL

Preparo da solução indicadora:

Triturar em gral de vidro 10g de iodeto de potássio (KI) p.a.

com 5g de iodo (I_2) p.a., adicionando pequenas quantidades de água durante a operação, e transferir a solução para balão volumétrico de 100mL. Completar o volume com água.

SOLUÇÃO DE VERMELHO DE METILA ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$) a 0,1 % (m/v)

Preparo da solução indicadora

Pesar 0,1 g de vermelho de metila p.a., dissolver em 60 mL de álcool etílico (C₂H₅OH) p.a. e diluir a 100 mL com água. Intervalo de viragem: pH 4,2 a 6,3 passando de vermelho a amarelo.

Observação: Todas as soluções indicadoras deverão ser conservadas em frasco âmbar.

BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Métodos físicos e químicos. In: _____. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes.

Brasília, DF, 1981. v. II.

MERCK. Indicadores ácidos e bases. (catálogo) MERCK. Reactivos, diagnóstica, productos químicos 1992/93. Darmstadt, 1993. 1584 p.

MORITA, T.; ASSUMPCÃO, R, M. V. Manual de soluções reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação. 2. ed.

São Paulo: E. Blucher, 1976. 627 p.

THE MERCK index. 10th ed. New Jersey, 1983. 22 p.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. (Coord.) Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. In: _____. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1.

VOGEL, A. I. Análise inorgânica quantitativa: Incluindo análise instrumental elementar. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1981.

D.O.U., 14/12/2006 - Seção 1