

Avaliação da eficácia do método oficial para detecção de neutralizantes químicos (hidróxido de sódio e bicarbonato de sódio) em amostras de leite

Maria Stéfane da Silva ^[1], Karolyne Amorim Souza ^[2], Simone Machado Goulart ^[3], Leonardo Magalhães de Castro ^[4], João Paulo Victorino Santos ^[5] *

^[1] mariastefane1998@gmail.com, ^[2] karolamorimsouza@outlook.com.com, ^[3] simone.goulart@ifg.edu.br,
^[4] leonardo.castro@ifg.edu.br, ^[5] joao.santos1@ifg.edu.br. Instituto Federal de Goiás (IFG), Itumbiara,

Goiás, Brasil

* autor correspondente

Resumo

O controle de qualidade e a segurança na cadeia produtiva do leite são prioridades para técnicos e órgãos reguladores. Medidas como higienização das instalações, higiene pessoal, qualidade da matéria-prima e uso de maquinário adequado são rigorosamente regulamentadas e inspecionadas para minimizar o risco de contaminação do produto. Entretanto, ainda ocorrem casos de contaminação por agentes químicos, como neutralizantes de acidez, utilizados para mascarar acidez titulável causada por microrganismos devido a más condições de higiene e refrigeração inadequada. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia do método oficial na detecção de neutralizantes químicos em diferentes concentrações. Para tanto, amostras foram preparadas com níveis de acidez de 0,14%, 0,18%, 0,20% e 0,22% e testadas com hidróxido de sódio e bicarbonato de sódio em concentrações próximas ao limite de detecção. Os resultados indicaram que o método oficial não é eficaz na detecção desses neutralizadores em níveis elevados de acidez, comprometendo a avaliação da qualidade do leite. O estudo sugere a necessidade de combinar diferentes metodologias analíticas, pois a falha do método oficial, associada à acidez do leite, pode permitir a comercialização de um produto com qualidade comprometida, representando um potencial risco à saúde dos consumidores.

Palavras-chave: análise qualitativa; controle de qualidade do leite; fraude por bicarbonato de sódio; fraude por hidróxido de sódio; neutralizadores de acidez.

Evaluation of the effectiveness of the oficial method for detecting chemical neutralizers (sodium hydroxide and sodium bicarbonate) in milk samples

Summary

Quality control and safety in the milk production chain are priorities for technicians and regulatory agencies. Measures such as facility sanitation, personal hygiene, raw material quality, and the use of appropriate machinery are rigorously regulated and inspected to minimize the risk of product contamination. However, cases of contamination by chemical agents, such as acidity neutralizers, used to mask titratable acidity caused by microorganisms due to poor hygiene conditions and inadequate refrigeration, still occur. In this context, the present study aimed to evaluate the effectiveness of the official method in detecting chemical neutralizers at different concentrations. For this purpose, samples were prepared with acidity levels of 0.14%, 0.18%, 0.20%, and 0.22%, and tested with sodium hydroxide and sodium bicarbonate at concentrations near the detection limit. The results indicated that the official method is not effective in detecting these neutralizers at elevated acidity levels, compromising the assessment of milk quality. The study suggests the need to combine different analytical methodologies, as the failure of the official method, associated with milk acidity, may allow the commercialization of a product with compromised quality, posing a potential health risk to consumers.

Keywords: acidity neutralizers; milk quality control; qualitative analysis; sodium bicarbonate fraud; sodium hydroxide fraud.

1 Introdução

O leite é amplamente considerado um dos alimentos mais completos, fornecendo nutrientes essenciais para o crescimento, desenvolvimento e manutenção da saúde humana. Sua composição inclui lipídeos, proteínas, carboidratos, água e vitaminas, o que ressalta sua importância na alimentação (Pellegrini *et al.*, 2012; Sandoval; Ribeiro, 2021).

De acordo com a Instrução Normativa (IN) 76, é proibida a adição de substâncias estranhas ao leite, como agentes inibidores do crescimento microbiano, neutralizantes de acidez, reconstituintes de densidade ou do índice crioscópico. Além disso, o leite não deve conter resíduos de produtos veterinários ou outros contaminantes. Está também expressamente proibida a administração de substâncias estimulantes que aumentem a secreção láctea, prejudiquem a saúde animal e humana, ou que sirvam para mascarar a qualidade do leite (BRASIL, 2018).

Apesar da complexidade envolvida no processo de controle de qualidade, fraudes na cadeia produtiva do leite continuam a ocorrer, geralmente com o objetivo de aumentar o lucro ou mascarar a presença de contaminantes. Entre as fraudes mais recorrentes, destaca-se a adição de neutralizantes, utilizados para reduzir a acidez do leite, a qual pode ser alterada por práticas inadequadas de higiene e refrigeração, favorecendo o crescimento de bactérias produtoras de ácido lático (Abrantes; Campêlo; Silva, 2014; Dias *et al.*, 2020; Uberti; Pinto, 2022). As fraudes na produção de leite e seus derivados afetam diversos atores da cadeia produtiva, incluindo produtores, transportadores, indústrias e consumidores. Para os produtores, as consequências incluem a redução da produção e da receita, além da ausência de pagamento após a entrega do produto. Os transportadores enfrentam a diminuição de contratos e mudanças nos métodos de pagamento. As indústrias lidam com a redução no recebimento e processamento devido às dificuldades de venda, bem como com o aumento dos custos relacionados ao controle de qualidade. Para os consumidores, os impactos incluem o aumento dos preços dos produtos finais, a diminuição da confiança e os riscos associados ao consumo (Roncato; Roncato; Villwock, 2017).

A determinação da acidez do leite é um parâmetro essencial para avaliar seu estado de conservação, uma vez que a acidez normal varia de 0,14% a 0,18% (p/v) de ácido lático. Caso o leite seja armazenado de forma inadequada após a coleta, o número de microrganismos presentes tende a aumentar, resultando em maior acidez. De acordo com Marques, Pires e Leães (2020), a elevação da acidez pode indicar condições precárias de higiene, deficiências no processo de refrigeração, uso de utensílios mal higienizados, tempo prolongado de estocagem ou uma combinação desses fatores. Hábitos inadequados de higiene foram identificados a partir de questionários aplicados, que demonstraram que 60% dos produtores (6/10) realizam a ordenha no estábulo, 70% (7/10) não realizam o pré-dipping, 60% (6/10) não praticam o pós-dipping e 40% (4/10) não executam o teste CMT para detecção de mastite nos animais.

A maioria dos estudos sobre a presença de contaminantes no leite utiliza metodologias oficiais de análise, conforme regulamentado pela Instrução Normativa nº 68, que estabelece os métodos físico-químicos oficiais para o controle de leite e derivados (BRASIL, 2006). Entretanto, poucos estudos abordam os limites de detecção dessas metodologias ou investigam os efeitos de outros compostos sobre tais limites, considerando a capacidade de detecção e a influência de contaminantes no leite.

O limite de detecção é definido como a menor concentração de um analito que pode ser detectada em uma amostra, sem a necessidade de quantificação precisa sob as condições estabelecidas no teste. Em outras palavras, corresponde à menor concentração de um analito que pode ser detectada de forma confiável, sem garantir sua quantificação exata (NATA, 2006). Portanto, o limite de detecção (LD) para procedimentos analíticos pode variar conforme o tipo de amostra, sendo essencial considerar todas as etapas do processo analítico na determinação desse LD. Quando são realizadas medições em amostras com baixos níveis de analito ou de propriedades, como na análise de traços, é crucial determinar qual é o menor valor de concentração que pode ser detectado pelo método (INMETRO, 2020).

Os métodos qualitativos previstos na legislação brasileira exigem determinações independentes para diferentes analitos, o que acarreta um grande número de testes, consumo de tempo, amostras e reagentes, além da geração de resíduos (BRASIL, 2006). Atualmente, há uma tendência de substituição desses

métodos clássicos por técnicas instrumentais que atendam às demandas globais de segurança, qualidade e rastreabilidade de alimentos (Cifuentes, 2012).

Paula *et al.* (2021) avaliaram os limites de detecção para substâncias antimicrobianas e neutralizantes de acidez com base nos métodos qualitativos oficiais de análise em leite, constatando que a menor concentração detectável de hidróxido de sódio foi de 0,02%, e para bicarbonato de sódio, de 0,05% (p/v). Diversos autores têm investigado a presença de redutores de acidez no leite e a capacidade dos métodos oficiais em detectar tais substâncias (Abrantes; Campêlo; Silva, 2014; Dias *et al.*, 2020; Gondim *et al.*, 2021; Rosa-Campos *et al.*, 2011; Uberti; Pinto, 2022).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de detecção do método oficial para diferentes concentrações dos neutralizantes químicos hidróxido de sódio e bicarbonato de sódio no leite.

No restante deste artigo, na seção 2 são apresentados estudos que identificam a presença de resíduos químicos, especialmente redutores de acidez, no leite, bem como metodologias para sua detecção. Na seção 3, descrevem-se as metodologias utilizadas para a identificação da menor concentração detectável desses compostos por meio dos métodos oficiais de análise. Os resultados da pesquisa, incluindo discussões e implicações sobre os limites de detecção do bicarbonato de sódio e do hidróxido de sódio, encontram-se na seção 4. As conclusões finais, que sintetizam as discussões do estudo, estão apresentadas na seção 5.

2 Referencial teórico

A determinação da acidez do leite é uma das principais medidas utilizadas no controle de qualidade das matérias-primas nas indústrias de laticínios. Essa acidez pode ser expressa em graus Dornic (°D) ou em porcentagem de ácido láctico. Embora o leite cru não apresente acidez intrínseca, a técnica de titulação permite a detecção de níveis de acidez, o que indica uma reação entre a substância titulante e os componentes do leite, resultando em uma acidez titulável (Tronco, 2008).

Parâmetros fora dos valores estabelecidos indicam baixa qualidade do leite ou possíveis falhas higiênicas no processo de produção. Abrantes, Campêlo e Silva (2014) afirmam que, inicialmente, as adulterações no leite visavam aumentar o volume por meio da adição de água ou da retirada de creme para a produção de outros derivados, como o creme de leite. Posteriormente, surgiram fraudes mais sofisticadas, incluindo a adição de soro de queijo, conservantes (como peróxido de hidrogênio), neutralizantes (hidróxido de sódio, bicarbonato de sódio) e reconstituintes de densidade e crioscopia (sal, açúcar, amido). Nesse contexto, observa-se que o objetivo dessas fraudes é aumentar a lucratividade, seja por meio do aumento do volume do leite, pela camuflagem da acidez ou pela melhora artificial da conservação.

A neutralização do leite com agentes alcalinos é uma das adulterações mais frequentes, utilizada para mascarar o aumento da acidez causado pela falta de higiene ou refrigeração inadequada. A neutralização excessiva altera significativamente a composição química do leite, saponificando sua gordura e hidrolisando suas proteínas, o que modifica sabor, textura, consistência e retarda a coagulação durante a produção de queijos. A detecção de neutralizantes pode ser feita por métodos qualitativos, como o ácido rosólico e a fenolftaleína. Ambos são indicadores ácido-base que mudam de cor de acordo com o pH do meio. No método do ácido rosólico, a cor vermelho-carmim indica a presença de neutralizantes (BRASIL, 2006).

Os neutralizantes são frequentemente adicionados para mascarar o aumento da acidez resultante da ação de microrganismos mesofílicos, os quais causam a coagulação ácida do leite (Tronco, 2008). Esses microrganismos degradam a lactose, produzindo ácido láctico, que é responsável pela redução do pH do leite, normalmente entre 6,4 e 6,8. A adição de neutralizantes, como bicarbonato de sódio e hidróxido de sódio, altera o pH, neutralizando-o e permitindo novamente o crescimento microbiano, o que resulta em um leite de qualidade inferior e fraudado (Franco; Langdraff, 2008).

No estudo realizado por Rosa-Campos (2011), resíduos de hidróxido de sódio foram detectados em 4 das 8 marcas analisadas no mercado. De acordo com Silva (2013), a adição de NaOH nas concentrações

de 0,01%, 0,025% e 0,05% reduziu os níveis de acidez de 17°D (controle) para 16°D, 13°D e 10°D, respectivamente. Contudo, a presença de hidróxido de sódio só foi constatada em concentrações a partir de 0,01%, por meio de provas específicas para neutralizantes.

Ao analisar amostras de leite cru adulteradas com bicarbonato de sódio (0,05%, 0,10% e 0,25%), Cassoli *et al.* (2011) utilizaram o método de infravermelho com transformada de Fourier (IVTF) e identificaram o limite de detecção para essa substância a partir de 0,05%. Wanderley *et al.* (2012) avaliaram métodos analíticos oficiais para a detecção de lipídios, extrato seco desengordurado, acidez titulável, densidade relativa a 15°C e crioscopia. Os autores concluíram que essas análises oficiais não foram eficazes para detectar irregularidades no leite, evidenciando a necessidade de métodos complementares para a identificação de neutralizantes de acidez, conservantes e reconstituintes, de modo a evitar a comercialização e consumo de leite impróprio.

Gondim *et al.* (2021) avaliaram a metodologia oficial e uma versão modificada em um processo de validação laboratorial envolvendo quatro adulterantes: bicarbonato de sódio (BI), carbonato de sódio (CA), hidróxido de sódio (HY) e citrato de sódio (CI). A versão modificada, com melhor desempenho, foi selecionada para validação interlaboratorial. No estudo, amostras de leite cru com acidez de 0,19% foram neutralizadas com diferentes concentrações dos adulterantes mencionados e testadas quanto à homogeneidade e estabilidade. Oito laboratórios de diferentes setores da cadeia produtiva do leite participaram da análise dessas amostras. Os resultados do ensaio colaborativo confirmaram o desempenho do método, embora a sensibilidade e precisão tenham sido inferiores às observadas nos testes intralaboratoriais, evidenciando as aplicações e limitações do método.

Métodos qualitativos fornecem respostas binárias, como presente/ausente, positivo/negativo ou sim/não, e são amplamente utilizados em análises de controle de qualidade (AOAC, 2014; Trullols *et al.*; Ruisánchez; Rius, 2004). Embora diversos estudos apresentem procedimentos para a validação de métodos qualitativos (Ellison; Fearn, 2005; Gondim *et al.*, 2014; Langton *et al.*, 2002; López; Callao; Ruisánchez, 2015; Macarthur; Holst, 2012), ainda não há um protocolo harmonizado. Nesse sentido, estudos envolvendo métodos qualitativos clássicos e multivariados para a detecção de adulterantes em leite são raros e limitados quanto aos parâmetros de desempenho, sendo restritos a processos intralaboratoriais (Botelho *et al.*, 2015; Silva, 2013; Silva *et al.*, 2015).

A crescente aplicação de métodos qualitativos nas rotinas de controle de qualidade sugere sua importância crescente nos sistemas de garantia de qualidade. Nesse contexto, a validação de métodos é essencial para garantir a confiabilidade e adequação dos métodos analíticos (López; Callao; Ruisánchez, 2015; Moore; Spink; Lipp, 2012).

3 Metodologia

Esta seção apresenta de forma sucinta os procedimentos adotados para a realização do estudo, abordando a preparação das amostras e os testes utilizados para avaliar a presença de contaminantes no leite.

3.1 Preparação das amostras para avaliação do Limite de Detecção (LD) de hidróxido de sódio em diferentes condições de acidez

Para avaliar os efeitos da variação da acidez do leite, as análises foram fundamentadas no LD previamente estabelecido por Paula *et al.*, (2021), no qual a concentração mínima para a detecção de hidróxido de sódio no leite foi de 0,02% (p/v). Neste contexto, utilizou-se leite *in natura*, isento de substâncias estranhas e conforme os parâmetros exigidos pela legislação para análises físico-químicas (BRASIL, 2018). As amostras foram homogeneizadas, divididas em 11 alíquotas de 100 mL e colocadas em balões volumétricos.

A amostra 1 (leite *in natura*) foi avaliada quanto à acidez, que deve estar entre 0,14% e 0,16% de ácido láctico, e foi realizado o teste de hidróxido de sódio, cujo resultado deve ser negativo para a presença desse contaminante (BRASIL, 2006). Após essa verificação, cada alíquota foi preparada com diferentes

concentrações de hidróxido de sódio (0,00%, 0,02% e 0,03% p/v) e elevações de acidez (0,18%, 0,20% e 0,22%), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Preparo das amostras para teste sobre os efeitos da acidez na detecção de hidróxido de sódio no leite

Amostra	Adição de NaOH 0,02%	Adição de NaOH 0,03%	Acidez alterada para 0,18%	Acidez alterada para 0,20%	Acidez alterada para 0,22%
1	-	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-
4	+	-	+	-	-
5	-	-	-	+	-
6	+	-	-	+	-
7	-	-	-	-	+
8	+	-	-	-	+
9	-	+	+	-	-
10	-	+	-	+	-
11	-	+	-	-	+

(+) positivo; (-) negativo

Fonte: dados da pesquisa

3.2 Preparação das amostras para avaliação do LD do bicarbonato de sódio em diferentes condições de acidez

As análises referentes ao bicarbonato de sódio seguiram a metodologia já avaliada por Paula *et al* (2021), que estabelece a concentração mínima para a detecção de bicarbonato de sódio no leite em 0,05% (p/v). Assim como na subseção 3.1, utilizou-se leite *in natura*, livre de substâncias estranhas e conforme a legislação (BRASIL, 2018). As amostras foram homogeneizadas e divididas em 11 alíquotas de 100 mL, sendo colocadas em balões volumétricos.

A amostra 1 (leite cru) foi analisada quanto à acidez, que deve estar entre 0,14% e 0,16% de ácido láctico, e foi realizado o teste de bicarbonato de sódio, cujo resultado deve ser negativo para a presença desse contaminante. Após essa verificação, cada alíquota foi preparada com diferentes concentrações de bicarbonato de sódio (0,00%, 0,05% e 0,06% p/v) e elevações de acidez (0,18%, 0,20% e 0,22%), conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 – Preparo das amostras para teste sobre os efeitos da acidez na detecção de bicarbonato de sódio no leite

Amostra	Adição de NaHCO ₃ 0,05%	Adição de NaHCO ₃ 0,06%	Acidez alterada para 0,18%	Acidez alterada para 0,20%	Acidez alterada para 0,22%
1	-	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-
4	+	-	+	-	-
5	-	-	-	+	-
6	+	-	-	+	-
7	-	-	-	-	+
8	+	-	-	-	+
9	-	+	+	-	-
10	-	+	-	+	-
11	-	+	-	-	+

(+) positivo; (-) negativo

Fonte: dados da pesquisa

3.3 Teste qualitativo para detectar a presença do hidróxido de sódio nas amostras

Para a realização do teste de detecção de NaOH em cada amostra de leite, foram transferidos 5,0 mL de leite de cada alíquota descrita na Tabela 1 para um tubo de ensaio, seguido pela adição de 4 gotas de azul de bromotimol. O resultado positivo é indicado pela coloração esverdeada, enquanto o resultado negativo corresponde à coloração amarela (BRASIL, 2006).

3.4 Teste qualitativo para detectar a presença do bicarbonato de sódio nas amostras

Para a realização do teste de detecção de NaHCO_3 em cada amostra de leite, foram transferidos 5,0 mL de leite de cada alíquota descrita na Tabela 2 para um tubo de ensaio, seguido pela adição de 10 mL de álcool absoluto e 6 gotas de ácido rosólico a 2% (p/v). O resultado positivo é indicado pela coloração vermelha-carmim (BRASIL, 2006).

3.5 Teste de acidez

Este teste foi realizado para verificar a alteração da acidez de forma intencional, por meio da adição de ácido láctico nas amostras selecionadas. A elevação da acidez foi realizada nas amostras 3, 4 e 9 para 0,18%; nas amostras 5, 6 e 10 para 0,20%; e nas amostras 7, 8 e 11 para 0,22%, visando as análises de hidróxido de sódio e bicarbonato de sódio. Para a preparação da solução de ácido láctico, foram acrescentados 5,9 mL de ácido láctico a 85% em um balão volumétrico de 50 mL.

Para a avaliação da acidez das amostras de leite, foram adicionados em um erlenmeyer 10 mL de leite e 4 gotas da solução de fenolftaleína a 1%, seguido pela titulação com solução de NaOH 0,1 mol/L até o aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos (BRASIL, 2006).

3.6 Avaliação dos resultados

Os resultados foram avaliados em conformidade com a legislação, conforme estabelecido na IN 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006), e comparados com os LDs encontrados nos trabalhos de Paula *et al.* (2021), Wanderley *et al.* (2012), Silva (2013), Cassoli *et al.* (2011) e outros estudos que abordaram métodos qualitativos oficiais para a análise de redutores de acidez em leite.

4 Resultados e discussão

Após a adição experimental de substâncias neutralizantes ao leite, em determinadas condições de acidez, e a execução de procedimentos analíticos para verificar a sensibilidade da metodologia estabelecida pela IN 62, foram observados os resultados das análises de hidróxido de sódio, conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultado da aplicação da metodologia oficial de detecção de hidróxido de sódio em leite

Amostra	Concentração de NaOH	Acidez inicial	Resultado
1	–	0,14%	–
2	0,02%	0,14%	+
3	–	0,18%	–
4	0,02%	0,18%	–
5	–	0,20%	–
6	0,02%	0,20%	–
7	–	0,22%	–
8	0,02%	0,22%	–
9	0,03%	0,18%	+
10	0,03%	0,20%	+
11	0,03%	0,22%	–

(+) positivo; (–) negativo

Fonte: dados da pesquisa

Paula *et al.*, (2021) constatou que o limite de detecção (LD) de NaOH no leite é de 0,02%. Assim, a presente pesquisa partiu dessa premissa para realizar as fraudes subsequentes nas alíquotas demonstradas.

Conforme indicado na Tabela 3, a alíquota 1 (leite inalterado), com acidez inicial de 0,14%, apresentou resultado negativo para a presença de NaOH. Em contrapartida, a alíquota 2, após a adição de NaOH na concentração de 0,02%, apresentou resultado positivo, validando, dessa forma, a pesquisa de Paula *et al.*, (2021).

Entretanto, a metodologia não se mostrou eficaz para detectar a presença fraudulenta do neutralizante na concentração de 0,02% nas amostras 4, 6 e 8, que foram testadas sob condições de acidez inicial de 0,18%, 0,20% e 0,22%, valores que estão no limite ou acima do permitido. Após a adição do hidróxido de sódio, os níveis de acidez foram restaurados aos parâmetros estabelecidos pela IN 76 (BRASIL, 2018), que é de 0,14%.

Silva (2013) relatou que, em sua pesquisa, amostras adulteradas com concentrações de 0,01%, 0,025% e 0,05% de NaOH somente foram detectadas a partir da concentração de 0,1%. O autor também enfatizou que o método foi eficaz na detecção da substância, mesmo após 48 horas de refrigeração.

A utilização do NaOH como substância fraudulenta no leite pode provocar a saponificação do produto, comprometendo a segurança alimentar. Em concentrações elevadas, essa substância pode representar riscos à saúde do consumidor, uma vez que se trata de um agente corrosivo (Silva, 2013).

Por outro lado, nas amostras adulteradas com hidróxido de sódio na concentração de 0,03%, apenas as alíquotas 9 e 10, com acidez de 0,18% e 0,20%, apresentaram resultados positivos para a presença de NaOH. A amostra 11, com acidez de 0,22%, não foi eficaz para a detecção.

Os dados indicam que o NaOH somente é detectado no leite em concentrações mais elevadas, dependendo do nível inicial de acidez do meio. Isso se deve ao fato de que, com o aumento da acidez e a concentração mantida em 0,02%, a amostra torna-se alcalina, resultando na neutralização. Para que o método volte a detectar a presença do NaOH, é necessário aumentar a concentração da substância no meio, a fim de promover uma neutralização parcial da amostra. Portanto, à medida que a acidez do leite se eleva, o LD pode variar para níveis mais altos.

O método do ácido rosólico baseia-se em reações ácido-base, tendo o ácido rosólico como indicador. Assim, a adição de compostos neutralizantes poderia não ser identificada por essa prova, uma vez que a quantidade de neutralizante adicionada ao leite poderia reagir com o ácido láctico em excesso, resultando em amostras com valores de pH e acidez dentro dos padrões (Milagres, 2012; Silva *et al.*, 2015).

Esse comportamento também é observado nos resultados obtidos com o bicarbonato de sódio, conforme demonstra a Tabela 4.

Tabela 4 – Resultado da aplicação da metodologia oficial de detecção de bicarbonato de sódio em leite

Amostra	Concentração de NaHCO ₃	Acidez inicial	Resultado
1	–	0,14%	–
2	0,05%	0,14%	+
3	–	0,18%	–
4	0,05%	0,18%	–
5	–	0,20%	–
6	0,05%	0,20%	–
7	–	0,22%	–
8	0,05%	0,22%	–
9	0,06%	0,18%	+
10	0,06%	0,20%	+
11	0,06%	0,22%	–

(+) positivo; (-) negativo

Fonte: dados da pesquisa

Na presente pesquisa, a adição de bicarbonato ao leite foi testada experimentalmente na concentração de 0,05%, visto que este valor foi o mínimo detectado em amostras de leite adulteradas nos trabalhos de Cassoli *et al.* (2011) e Paula *et al.*, (2021). A alíquota 1 (leite inalterado), com acidez inicial

de 0,14%, apresentou resultado negativo para a presença de NaHCO_3 . Por sua vez, a alíquota 2, após a adição de NaHCO_3 na concentração de 0,05%, apresentou resultado positivo, validando, assim, as pesquisas de Cassoli *et al.* (2011) e Paula *et al.*, (2021).

Entretanto, a metodologia também não foi eficaz para detectar a presença fraudulenta de bicarbonato de sódio na concentração de 0,05% nas amostras 4, 6 e 8, que foram testadas sob condições de acidez inicial de 0,18%, 0,20% e 0,22%, valores que estão no limite ou acima do permitido. Isso se deve ao fato de que, após a adição do neutralizante, os valores de acidez diminuíram e retornaram aos parâmetros estabelecidos pela IN 76 (BRASIL, 2018).

Nas amostras adulteradas com bicarbonato de sódio na concentração de 0,06%, apenas as alíquotas 9 e 10, com acidez de 0,18% e 0,20%, apresentaram resultados positivos para a presença de NaHCO_3 . A amostra 11, com acidez de 0,22%, não foi detectada.

Cassoli *et al.* (2011) testaram a sensibilidade do método de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em amostras de leite cru adulteradas com bicarbonato de sódio nas concentrações de 0,05%, 0,10% e 0,25%, constatando que o LD para o bicarbonato de sódio é de 0,05%. Wanderley *et al.* (2012) também realizaram análises com amostras adulteradas e observaram que o LD foi de 0,06%. Além disso, essas amostras adulteradas evidenciaram uma redução do ponto de congelamento e diminuição da acidez titulável.

Diante dos resultados obtidos, observa-se que a capacidade de detecção do NaHCO_3 é equivalente à do NaOH . Constatou-se que o neutralizante somente é detectado no leite em concentrações mais elevadas, devido ao fato de que, quando o nível de acidez é aumentado e a concentração da substância alcalina permanece baixa, a amostra é neutralizada.

Os resultados das análises demonstram que as fraudes por adição de neutralizantes, quando realizadas em concentrações abaixo dos limites de detecção em leite com acidez suficiente para promover a neutralização total da amostra, podem não ser identificáveis pelos métodos previstos pela legislação. Assim, à medida que a acidez do leite se eleva, o LD é alterado para concentrações superiores.

Baseando-se neste estudo, se o leite com acidez inicial acima do parâmetro for adulterado com uma concentração inferior ao LD estabelecido, o método oficial não será eficaz para detectar tal fraude, resultando na liberação do leite para processamento e consumo.

Esse fato reforça a necessidade de pesquisas que avaliem as metodologias oficiais de análise e seus limites de detecção, uma vez que esses métodos de detecção não são suficientemente precisos, permitindo que diversas fraudes passem despercebidas nas análises, levando à comercialização de leite adulterado, o que prejudica financeiramente o consumidor e apresenta riscos à saúde.

O principal fator determinante para a eficácia do método oficial de detecção é a presença de um excesso de redutores de acidez no leite, ou seja, compostos que não tenham reagido completamente com os ácidos presentes e que, portanto, são capazes de produzir um resultado positivo ao reagir com os indicadores de acidez utilizados nas metodologias. Em casos de acidez elevada, há maior reação com os redutores, o que pode resultar em um resultado falso-negativo. Ressalta-se que essa alteração na acidez geralmente decorre de condições inadequadas de conservação e higiene do leite, podendo estar associada à presença de outras fraudes, como resíduos de antibióticos ou conservantes químicos, incluindo formaldeído, um composto cancerígeno.

Atualmente, não há uma metodologia prática e de fácil implementação para o uso cotidiano nas indústrias de laticínios que seja capaz de detectar redutores de acidez em baixas concentrações ou que não seja influenciada pela elevação da acidez. Milagres *et al.* (2012) apresentaram um método analítico para a quantificação de ácido láctico no leite por exclusão iônica – HPLC com detecção UV. Esse método mostrou-se eficaz na determinação da acidez do leite, mesmo em amostras adulteradas com neutralizantes, demonstrando ser uma alternativa promissora para a detecção de fraudes. No entanto, a técnica não é facilmente aplicável no controle de qualidade diário, pois requer equipamentos de alto custo e longo tempo de análise.

O combate a essa fraude deve envolver a combinação de análises laboratoriais com um acompanhamento mais próximo dos produtores e/ou distribuidores de leite (tanqueiros), visando à detecção de outros contaminantes e à avaliação periódica das condições de produção, transporte e armazenamento, de modo que sejam compatíveis com os resultados das análises realizadas.

5 Conclusão

A metodologia oficial de análise demonstrou ineficácia na detecção do hidróxido de sódio na concentração de 0,02% (p/v) e do bicarbonato de sódio na concentração de 0,05% (p/v) nas amostras com acidez inicial elevada a pelo menos 0,18% em ácido láctico, valores que se encontram no limite ou acima do permitido. Os resultados obtidos indicam que a metodologia falha, uma vez que a concentração das substâncias é totalmente neutralizada pelos elevados níveis de acidez, evidenciando que, à medida que a acidez do leite aumenta, o limite de detecção (LD) também se eleva.

Considerando esses aspectos, a necessidade de pesquisas que validem as metodologias tem crescido e se torna indispensável para assegurar que os métodos utilizados sejam adequados para identificar ou quantificar substâncias em faixas específicas, reduzindo, assim, a comercialização de alimentos fraudulentos. A combinação de diferentes metodologias validadas para a avaliação da acidez do leite é de suma importância, contribuindo para a correta interpretação dos resultados.

Para trabalhos futuros, sugere-se a avaliação da capacidade da metodologia oficial em detectar redutores de acidez sob diferentes condições, como a presença de reconstituidores de densidade, a exemplo de cloreto de sódio e citrato de sódio, bem como de substâncias conservantes, como o formaldeído, entre outros. Além disso, estudos que utilizem técnicas de análise por HPLC podem contribuir para a validação e proposição de novas metodologias analíticas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Goiás (IFG), câmpus Itumbiara e ao Núcleo de Pesquisas e Estudos em Química do Estado de Goiás (NUPEQUI).

Financiamento

Este trabalho recebeu subvenção financeira do Programa de Apoio à Produtividade em Pesquisa (PROAPP/IFG), Edital n° 45/2023-PROPPG.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuições ao artigo

SILVA, M. S.; SOUZA, K. A.: concepção ou desenho do estudo/pesquisa; análise e/ou interpretação dos dados. **GOULART, S. M.; CASTRO, L. M.; SANTOS, J. P. V.:** análise e/ou interpretação dos dados. Todos os autores participaram da escrita, discussão, leitura e aprovação da versão final do artigo.

Referências

ABRANTES, M. R.; CAMPÊLO, C. S.; SILVA, J. B. A. Fraude em leite: métodos de detecção e implicações para o consumidor. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 73, n. 3, p. 244-251, 2014. DOI: <https://doi.org/10.18241/0073-98552014731611>.

AOAC (AOAC INTERNATIONAL). AOAC International guidelines for validation of qualitative binary chemistry methods. *Journal of AOAC International*, v. 97, n. 5, p. 1492-1495, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.binaryguidelines>.

BOTELHO, B. G.; REIS, N.; OLIVEIRA, L. R.; SENA, M. M. Development and analytical validation of a screening method for simultaneous detection of five adulterants in raw milk using mid-infrared spectroscopy and PLS-DA. **Food Chemistry**, v. 181, p. 31-37, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.077>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006**. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e Produtos lácteos. Departamento de Inspeção de Produto de Origem Animal. Brasília-DF. 2006. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/mpa/legislacao/legislacao-geral-da-pesca/instrucao-normativa-mapa-no-68-de-12-12-2019.pdf/view>. Acesso em: 20 maio 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa MAPA nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, 29 nov. 2018. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/doi-1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076. Acesso em: 20 maio 2024.

CASSOLI, L. D.; SARTORI, B.; ZAMPAR, A.; MACHADO, P. F. An assessment of Fourier Transform Infrared spectroscopy to identify adulterated raw milk in Brazil. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, n. 4, p. 480-485, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00711.x>.

CIFUENTES, A. Food analysis: present, future, and foodomics. **International Scholarly Research Network**, v. 2012, 801607, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5402/2012/801607>.

DIAS, V. H. C.; SANTOS, E. A. R.; TADIELO, L. E.; SCHMIEDT, J. A.; SOVINSKI, A. I.; BERSOT, L. S.; BARCELLOS, V. C. Métodos oficiais empregados para autenticidade, controle da qualidade e detecção de fraudes em leite cru refrigerado no Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6. n. 2, p. 7129-7137, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n2-130>.

ELLISON, S. L. R.; FEARN, T. Characterising the performance of qualitative analytical methods: Statistics and terminology. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. , p. 468-476, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2005.03.007>.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

GONDIM, C. S.; COELHO, O. A. M.; ALVARENGA, R. L.; JUNQUEIRA, R. G.; SOUZA, S. V. C. An appropriate and systematized procedure for validating qualitative methods: its application in the detection of sulfonamide residues in raw milk. **Analytica Chimica Acta**, v. 830, p. 11-22, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.04.050>.

GONDIM, C. S.; PALHARES, M. P.; SANTOS, P. P. B.; SOUSA, R. C.; JUNQUEIRA, R. G.; SOUZA, S. V. C. Detection of acid neutralizers in fraudulent milk: full validation of a classical qualitative method. **Química Nova**, v. 44, n. 5, p. 625-635, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170703>.

INMETRO – INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. Comissão Técnica de Química CT05. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**: documento de caráter orientativo: DOQ- CGCRE-008: revisão 09. Brasília, DF, Junho/2020. 30 p. Disponível em: <https://www.gov.br/cdtn/pt-br/assuntos/documentos-cgcre-abnt-nbr-iso-iec-17025/doq-cgcre-008/view>. Acesso em: 20 maio 2024.

LANGTON, S. D.; CHEVENNEMENT, R.; NAGELKEKE, N.; LOMBARD, B. Analysing collaborative trials for qualitative microbiological methods: accordance and concordance. **International Journal of Food Microbiology**, v. 79, n. 3, p. 171-181, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(02\)00107-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00107-1).

LÓPEZ, M. I.; CALLAO, M. P.; RUISÁNCHEZ, I. A tutorial on the validation of qualitative methods: from the univariate to the multivariate approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 891, p. 62-72, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.06.032>.

MACARTHUR, R.; HOLST, C. A protocol for the validation of qualitative methods of detection. **Analytical Methods**, v. 4, p. 2744-2754, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C2AY05719K>.

MARQUES, T. M.; PIRES, P. R.; LEÃES, F. L. Avaliação da qualidade de leite cru refrigerado de produtores assistidos pela EMATER/RS no município de São Luiz Gonzaga (RS). **Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, João Pessoa, n. 52, p. 117-128, nov. 2020. ISSN 2447- DOI: <http://dx.doi.org/10.18265/1517-0306a2020v1n52p117-128>.

MILAGRES, M. P.; BRANDÃO S. C. C., MAGALHAES, M. A.; MINIM, V. P. R., MINIM, L. A. Development and validation of the high performance liquid chromatography-ion exclusion method for detection of lactic acid in milk. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1078-1082, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.047>.

MOORE, J. C.; SPINK, J.; LIPP, M. Development e application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 4, p. R118-R126, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02657.x>.

NATA – National Association of Testing Authorities. **Technical Note 17**. Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods. NATA, 2006. Disponível em: https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=1169. Acesso em: 20 out. 2024.

PAULA, H. F; GOULART, S. M.; CASTRO, L. M.; SANTOS, J. P. V. SANTOS, T. S. Avaliação dos limites de detecção dos testes qualitativos oficiais de redutores de acidez em leite. **Revista Tecnia**, v. 6, n. 1, p. 34-49. 2021. Disponível em: <https://periodicos.ifg.edu.br/tecnica/article/view/1006>. Acesso em: 18 out. 2024.

PELLEGRINI, L. G.; CASSANEGO, D. B.; GUSSO, A. P.; MATTANNA, P.; SILVA, S. V. Características físico-químicas de leite bovino, caprino e ovino. **Synergismus Scientifica**, Curitiba, v. 7, n. 1, 2012. Disponível em: <http://revistas.utfpr.edu.br/pb/index.php/SysScy/article/view/1512>. Acesso em: 10 out. 2019.

ROSA-CAMPOS, A. A.; ROCHA, J. E. S.; BORGIO, L. A.; MENDONÇA, M. A. Avaliação físico-química e pesquisa de fraudes em leite pasteurizado integral tipo C produzido na região de Brasília, Distrito Federal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 379, p. 30-34, 2011. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/159>. Acesso em: 20 maio 2024.

RONCATO, P. E. S.; RONCATO, M. A.; VILLWOCK, A. P. S. As fraudes na cadeia produtiva do leite: um estudo de caso na Região Fronteira Noroeste do Rio Grande do Sul sob a luz da nova economia institucional. **Desenvolvimento em Questão**, v. 15, n. 38, p. 295-318, 2017. DOI: <https://doi.org/10.21527/2237-6453.2017.38.295-318>.

SANDOVAL, V. L.; RIBEIRO, L. F. Qualidade do leite: sua influência no processamento, requisitos obrigatórios e sua importância para o produto final. **Gestão, Tecnologia e Ciências**, v. 10, n. 8, p. 41-49, 2021. Disponível em: <https://revistas.fucamp.edu.br/index.php/getec/article/view/2387>. Acesso em: 03 out. 2024.

SILVA, L. C. C. **Capacidade de detecção de adulteração e suficiência das provas oficiais para assegurar a qualidade do leite pasteurizado**. 2013. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/81561>. Acesso em: 20 maio 2024.

SILVA, L. C. C.; TAMANINI, R.; PEREIRA, J. R.; RIOS, E. A.; RIBEIRO JUNIOR, J. C.; BELOTI, V. Preservatives and neutralizing substances in milk: analytical sensitivity of official specific and nonspecific tests, microbial inhibition effect, and residue persistence in milk. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1613-1618, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141013>.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2008.

TRULLOLS, E.; RUISÁNCHEZ, I.; RIUS, F. X.; HUGUET, J. Validation of qualitative methods of analysis that use control samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 137-145, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.04.001>.

UBERTI, A.; PINTO, A. T. O leite e suas principais fraudes. In: CORDEIRO, C. A. M.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; SANCHES, A. G. (org.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos: o avanço da Ciência no Brasil**. Editora Científica Digital, 2022. p. 151-161. DOI: <https://doi.org/10.37885/220709518>.

WANDERLEY, C. H.; SILVA, A. C. O.; SILVA, F. E. R.; MÁRSICO, E. T.; CONTE JUNIOR C. A. Avaliação da sensibilidade de métodos analíticos para verificar fraude em leite fluido. **Revista de Ciências da Vida**, v. 32, n. 2, p. 34-42, 2012.