

DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS NO LEITE DE BÚFALA PELO
MÉTODO DE FORMOL

Sebastião Hühn¹

Maria de Lourdes de Paiva²

Luiz Carlos Vieira³

RESUMO: O trabalho apresenta os resultados de 52 determinações de proteínas no leite de búfala pelo método de formol e paralelo a estas, 52 pelo método oficial de Kjeldahl, sendo que 26 determinações foram feitas no período mais chuvoso e 26 no período me nos chuvoso. O estudo da relação entre os dois métodos aplicados nas amostras de leite composto (amostras da tarde e da manhã do dia seguinte foram reunidas em quantidades proporcionais à produção leiteira do rebanho) ao longo de 52 semanas forneceu um desvio padrão (DP) de 0,26%, um coeficiente de correlação (r)=0,82, demonstrando que o fator de conversão $F=1,569$, pode ser empregado para calcular o teor de proteínas no leite de búfala. O método estudado além de dispensar aquisições de aparelhos e consumo de energia, é mais econômico, seguro e rápido, do que os já tradicionalmente usados em laboratórios de controle de qualidade de leite e seus derivados.

1 - Quím. Ind. M.Sc. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Pesquisador da EMBRAPA-CPATU.

2 - Quím. Ind. Bolsista do PIEP - Convênio EMBRAPA/CNPq.

3 - Engº. Agrº Laticinista da EMBRAPA - CPATU.

Introdução:

A titulação pelo formol ou formaldeído é um método que pode ser utilizado para a determinação de proteínas no leite de búfala. Este método segundo Wolfschoon & Leite 1977, se baseia na reação entre o formaldeído e os grupos aminogênicos das proteínas.

Este método foi estudado por Wolfschoon & Vargas 1977, quando estes aplicaram para determinação de proteínas no leite cru e pasteurizado de leite bovino. A literatura brasileira não tem trabalho nenhum sobre a utilização deste método na determinação de proteínas do leite de búfala.

Wolfschoon & Leite 1977, aplicaram este método na determinação de proteínas solúveis nos soros de leite bovino, oriundos das fabricações de queijos Minas Padronizado, Minas Frescal, Prato e Mussarela e concluíram ser um método perfeitamente viável no controle da fabricação de queijos.

Existem vários métodos de determinação de proteínas do leite tais como nitrogênio total pelo método de Kjeldahl (A.O.A.C. 1974), Pro-MILK MK II (A.O.A.C. 1974), MILKO - SCAN 104-S (A/S N. FOSS ELECTRIC 1985). Apesar desses aparelhos apresentarem resultados exatos, precisos, rápidos e serem dimensionados para trabalhar com grande número de amostras, necessitam entretanto de calibragem especial através de correlação entre os métodos de análise padrão convencionais e as leituras dos diversos componentes do leite, derivados e outros produtos, detectadas eletronicamente. Além disso, as medições nesses aparelhos são geralmente realizadas à temperatura constante, pH estabilizado por soluções tampões, rede de fornecimento de energia elétrica estável, pois qualquer oscilação na energia fornece leituras imprecisas necessitando com isto frequentes repetição de calibragem. Além desses cuidados com os aparelhos, os mesmos para serem adquiridos há necessidade de importá-los a preços de elevadas somas de dólares.

Com o objetivo de se determinar um fator de conversão (F), para o cálculo de percentagem de proteínas total existente

no leite de búfala, foi empregado método de formol, a fim de que o mesmo possa ser utilizado pelas pequenas e médias empresas e laboratórios, devido ser um método de rápida execução, bastante seguro e de baixo custo.

Material e Métodos:

Foi utilizado leite composto de búfala Mediterrâneo e mestiços Murrah - Mediterrâneo do rebanho da EMBRAPA-CPATU, localizado na Unidade de Pesquisa de Pubalinos "Dr. Felisberto Camargo", em Belém-PA, localizado no tipo climático Afi, com temperatura média anual de 27°C e precipitação pluviométrica de 2.800mm, com uma época mais chuvosa, de dezembro a maio e outra menos chuvosa, de junho a novembro.

Foram coletadas amostras de 250 ml de leite do total da produção leiteira da tarde e da manhã do dia seguinte, respectivamente, reunidas e mantidas sob refrigeração, para posterior análise (BRITISH STANDARDS INSTITUTION 1984).

Foram feitas 52 determinações de proteínas em triplicatas pelo método de formol (WOLFCHOON & VARGAS 1977) e paralelamente a estas, 52 determinações de proteínas em triplicatas pelo método de Kjeldahl (A.O.A.C 1974), durante as épocas mais e menos chuvosas, pelo período correspondente a 52 semanas.

Em erlenmeyer de 125 ml, tomou-se 10 ml da amostra de leite, adicionou-se 10 ml de água destilada, livre de CO₂, 0,4ml de K₂Cr₂O₄ a 28%, 1,0 ml de solução hidroalcoólica de fenolftaleína a 1,0% e determinou-se a acidez titulando-se com solução de NaOH a 0,1 N fator 1,000, até a coloração ligeiramente rosea. Em seguida procedeu-se a adição de 2 ml de solução de formaldeído a 35%, neutralizado com solução de NaOH até pH próximo de 7, e titulou-se novamente com solução de NaOH a 0,1 N fator 1,000, até coloração rósea.

A percentagem de proteínas encontrada pelo método tradicional de Kjeldahl, dividido pelo volume gasto na segunda titulação, representa o fator de conversão (F).

Os dados obtidos pelos métodos testados foram analisados e determinados os coeficientes de correlação, entre os meses.

A análise estatística foi feita pelos pesquisadores Drs. Raimundo Parente de Oliveira e Rosemaary Moraes Ferreira Viêgas do Setor de Métodos Quantitativo da EMBRAPA-CPATU.

Resultados e Discussão:

Na tabela 1, encontram-se os resultados das médias fornecidas pelos métodos de Kjeldahl e os ml gastos de NaOH 0,1N $F=1,000$ na segunda titulação quando foi adicionado o formol. A percentagem de proteínas encontrada pelo método tradicional de Kjeldahl, dividido pelo volume gasto de NaOH na segunda titulação fornece o fator de conversão (F).

De acordo com a tabela 1, observou-se que a partir da 2ª semana ocorreu diminuição nos teores de proteínas até a 43ª semana de lactação. Este decréscimo foi mais pronunciado, a partir da 13ª semana, continuando este declínio até o final do período mais chuvoso e grande parte do período menos chuvoso.

A partir da 47ª semana observou-se considerável aumento nos teores de proteínas no leite em ambos os métodos empregados.

Os valores médios encontrados neste trabalho são oriundos de amostras compostas de um rebanho de bubalinos da raça Mediterrâneo e mestiças Murrah - Mediterrâneo. Para efeito de cálculo do fator de conversão (F) para a determinação de proteínas no leite de búfala, é mais recomendado tomar amostras compostas de rebanho bubalino que apresentem maior mestiçagem de grau de sangue, a fim de que o fator (F) possa apresentar pouca ou nenhuma variação ao longo da lactação.

O estudo da relação entre os dois métodos aplicado nas amostras ao longo das 52 semanas forneceu um desvio padrão (DP) de 0,26%, um coeficiente de correlação (r) de 0,82 e um fator de conversão (F) de 1,569.

Os valores calculados para o fator de conversão (F) para as proteínas do leite de búfala, têm se apresentado menor do que aqueles encontrados para o leite bovino, cujo o valor situa-se em torno de 1,747, segundo Wolfschoon et al. 1977.

O valor do coeficiente de correlação de 0,82, indica

uma alta correlação positiva entre os resultados fornecidos por ambos os métodos evidenciando com isto a maior segurança na utilização do fator (F) de 1,569 para converter o número de mililitros de NaOH 0,1N $f = 1,00$ em porcentagem de proteínas no leite de búfala.

O método estudado além de dispensar aquisições de aparelhos e consumos de energia, é mais econômica e rápido do que os já tradicionalmente usados em laboratórios de controle de qualidade.

TABELA 1 - Resultados das Determinações de Proteínas pelo Método de Formol e Kjeldahl, em amostras de Leite de Púfala, e o fator de conversão (F).

(Semana)	Método de Kjeldahl (% de proteína)	Método de Formol (ml NaOH 0,1N)	Fator de Conversão (F = % Proteínas/ml NaOH)
1	3,58	2,12	1,689
2	3,21	2,10	1,528
3	3,51	2,33	1,506
4	3,55	2,40	1,479
5	3,48	2,13	1,634
6	3,48	2,27	1,533
7	3,47	2,22	1,563
8	3,55	2,20	1,614
9	3,12	2,08	1,500
10	3,44	2,10	1,638
11	3,14	2,08	1,510
12	3,24	2,03	1,596
13	3,10	2,00	1,550
14	3,17	2,03	1,562
15	2,96	2,10	1,410
16	2,93	2,07	1,415
17	2,64	1,87	1,412
18	3,00	1,88	1,596
19	2,85	1,82	1,566
20	3,24	2,05	1,580
21	2,96	2,27	1,307
22	3,03	1,97	1,538
23	2,85	1,92	1,484
24	3,26	2,08	1,567
25	3,00	1,92	1,563
26	2,73	1,93	1,415
27	3,03	1,97	1,538
28	2,85	1,92	1,548
29	3,26	2,08	1,567
30	3,00	1,92	1,563
31	2,73	1,93	1,414
32	3,05	2,07	1,473
33	3,17	1,97	1,609
34	3,30	1,98	1,667
35	3,14	2,00	1,570
36	2,94	1,98	1,485
37	3,12	2,00	1,560
38	3,30	2,08	1,586
39	3,30	2,07	1,594
40	3,40	2,30	1,478
41	3,49	2,25	1,551
42	3,33	2,13	1,563
43	3,58	2,17	1,650
44	3,63	2,22	1,635
45	3,44	2,15	1,600
46	3,49	2,20	1,586
47	4,20	2,37	1,772
48	4,07	2,22	1,833
49	4,12	2,32	1,776
50	4,09	2,33	1,755
51	4,10	2,32	1,760
	$\bar{x} = 3,30$	$\bar{x}_1 = 2,10$	$\bar{x}_2 = 1,569$

Bibliografias

- WOLFSCHOON, A.F. & LEITE, E.A. A titulação do formol: Método rápido para determinação de proteínas no soro. Rev. I.L.C.T. 32 (193): 3-6, 1977.
- WOLFSCHOON, A.F. & VARGAS, O.L. Aplicação do método de formol na determinação de proteínas no leite cru e pasteurizado. Rev. I.L.C.T. 32 (192): 3 - 13, 1977.
- WOLFSCHOON, A.F.; LEITE, E.A & FERREIRA, A.C. Determinação de proteínas com o método de formol. Boletim do leite, 58c: 44 - 5. 1977.
- A/S N. FOSS ELECTRIC. Milko - Scan 104 - S.
- BRITISH STANDARDS INSTITUTION. Methods for sampling milk and milk products. London, 1974. (P.S. 809).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. U.S.A. Official methods of analysis. 14 ed. Arlington, Virginia, 1984. 1141 p.