

MÉTODO ALTERNATIVO PARA DETECÇÃO DE UREIA EXÓGENA NO LEITE

*Gustavo L. Maronezi¹, Ana C. da Silva², Juliane P. D. Sachs³ & Luís G. Sachs^{*4}*

¹ Graduando em Agronomia, UENP-CLM/CMETL, gustavo_maronezi10@hotmail.com

² Graduanda em C. Biológicas, UENP-CJ/CCHE, tec.anacarol@hotmail.com

³ Química, MS Ciências de Alimentos, UENP-CLM/CCB, jsachs@uenp.edu.br

⁴ Eng. Agrônomo, Dr. Ciência de Alimentos, UENP-CLM/CCA, sachs@uenp.edu.br

*Orientador/autor para correspondência

RESUMO – O leite e seus derivados são uns dos mais importantes alimentos para o ser humano tanto em quantidade quanto em qualidade nutricional. Devido o alto valor comercial do leite, fraudes por molhagem são recorrentes. A ureia, dentre outras substâncias é adicionada ao leite para mascarar as análises de detecção da molhagem (índice crioscópico e densidade). O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método simples para detecção de ureia exógena no leite. O princípio do método foi a hidrólise da ureia pela urease de soja, resultando na formação de amônia e consequente alcalinização do leite, revelada por indicador ácido-base. O método se mostrou eficaz na detecção de uréia exógena quando adicionada para compensar adição de água igual ou superior a 5% de modo a mascarar a análise crioscópica.

PALAVRAS-CHAVE: análise qualitativa; adulteração; alimento

ALTERNATIVE METHOD FOR DETECTION OF EXOGENOUS UREA IN MILK

ABSTRACT – Milk and their derivatives are one of the most important foods for humans both in quantity as a in nutritional quality. Due to the high commercial value of the milk the frauds of wetting are recurrent. Ureas, among other substances are added to mask the milk in analysis of wetting detection (cryoscopic index and density). The aim of this study was to develop a simple method for detection of exogenous urea in milk. The principle of the method is the hydrolysis of urea by soybean urease, resulting in the formation of ammonia and subsequent milk alkalization, revealed by acid-base indicator. The method is effective in detecting urea when added exogenously to compensate for the addition of water equal or above the 5% in order to mask the cryoscopic analysis.

KEY WORDS: qualitative analysis; adulteration; food

INTRODUÇÃO

Devido o alto valor comercial do leite são comuns fraudes de diversas naturezas, sendo preocupante a frequência das adulterações. Autoridades indianas relataram que quase 70% do leite comercializado na Índia é adulterado (REUTERS, 2012), no Paquistão a situação é ainda pior, onde estima-se que 93% dos produtos lácteos são adulterados (DAILY TIMES, 2012). Algumas fraudes têm causado graves problemas de saúde pública, como os casos ocorridos na China, onde o Ministério da Saúde deste país estimou que 294 mil crianças adoeceram por ingerirem leite adulterado, muitos dos quais com gravidade e 6 morreram (FRANCE24, 2008). Com a globalização do mercado, ninguém está livre de consumir produtos adulterados, haja vista que até na Europa foram apreendidos produtos lácteos fraudados na China (ESTADÃO, 2008).

Muitas fraudes têm ocorrido no Brasil, como as molhagens acompanhadas da adição de solutos para compensar mudanças físico-químicas associadas a esta prática. O abaixamento do ponto de congelamento de uma solução é diretamente proporcional à fração em quantidade de matéria dos solutos (ATIKINS; PAULA, 2008), desta forma, o índice crioscópico do leite é afetado pelas quantidades de matéria relativas de solutos dissolvidos e de solvente, sendo que o aumento da quantidade de solutos diminui o ponto de congelamento, enquanto que o aumento na quantidade de solvente, no caso a água, aumenta o ponto de congelamento.

Recentemente, no Brasil, teve grande repercussão na imprensa a fraude por adição de ureia ao leite (OGLOBO, 2013; FOLHA, 2013; ESTADÃO, 2013). A explicação mais plausível para esta prática é que a

adição de solutos como a ureia ao leite pode mascarar os resultados do teste de crioscopia, usado para detectar a fraude por molhagem. Revisitando dados de Oliveira (2009) foi possível inferir que a adição de 0,27% (m/v) de ureia pode mascarar a adição de 15% (v/v) de água ao leite na análise crioscópica. A ureia seria um soluto conveniente para este tipo de fraude uma vez que até então não era comum, em análises de fiscalizações do leite, ensaios que visassem detectar a presença de uréia exógena.

A ureia pode ser decomposta pela ação de urease [EC: 3.5.1.5] em CO₂ e amônia, que em solução aquosa forma hidróxido de amônio aumentando o pH do meio. A soja pode servir como fonte natural de urease (FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002), assim, com o uso conjunto de extratos vegetais como fontes de urease e de indicadores visuais ácido-base, pode ser possível a detecção da presença de uréia no meio.

Em função do exposto os objetivos deste trabalho foram demonstrar que a uréia pode ser usada com a finalidade de mascarar a fraude por molhagem nos ensaios crioscópicos e desenvolver um método simples para detecção de ureia exógena no leite, de forma que se possa empregar no ensino da química.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de solução de urease (EC: 3.5.1.5): 50 g de soja foi macerada por 3 horas em 200 mL de água deionizada na temperatura ambiente. Após esse período a água foi escorrida e os grãos macerados foram triturados em liquidificador com 200 mL de água a 40° C por 5 min. A massa resultante da trituração foi filtrada em papel de filtro para café. O extrato obtido da filtração foi usado como fonte de urease.

Amostras de leite: as amostras foram obtidas na unidade de pasteurização da Fazenda Escola da UENP-CLM. A estas amostras foram acrescentadas Zero, 2,5, 5,0, 10, 15 e 20% (v/v) de solução aquosa de ureia. A solução de uréia foi preparada a 16,8 g/L, de modo a compensar o ponto de congelamento desta solução para valores semelhante ao do leite normal.

Neutralização do leite: 200 mL de leite foram fervidos por 2 min. para interromper a atividade microbiana. Após resfriado acrescentou-se, a uma alíquota de 20 mL de leite, 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% e titulou-se, com solução NaOH 0,10 mol/L, até o aparecimento da cor levemente rósea. Sobre esta solução foi gotejado o leite fervido (do restante da amostra) até que uma gota provocasse o desaparecimento da cor rósea.

Identificação da presença de uréia exógena: ao leite neutralizado foi acrescentado 1,0 mL da solução de urease e aguardou-se 20 min (na temperatura ambiente). Após o tempo aguardado para atuação da enzima, a presença da ureia exógena foi revelada pelo reaparecimento da cor rósea.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentados os resultados do índice crioscópico e da presença de ureia exógena nas amostras de leite com adição de água não compensada e compensada crioscopicamente com ureia.

Tabela 1 - Resultados dos índices crioscópicos do leite e da presença de ureia exógena

% de sol. ureia 16,8g/L (mL/100mL) ¹	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Amostra 4	
	Crioscopia °H	Ureia exógena ²	Crioscopia °H	Ureia exógena ²	Crioscopia °H	Ureia exógena ²	Crioscopia °H	Ureia exógena ²
0	-0,534	-	-0,547	-	-0,537	-	-0,538	-
5	-0,534	+	-0,544	+	-0,536	+	-0,534	+
10	-0,536	+	-0,546	+	-0,534	+	-0,535	+
15	-0,540	+	-0,545	+	-0,531	+	-0,534	+
20	-0,534	+	-0,546	+	-0,533	+	-0,535	+

¹A água adicionada foi compensada crioscopicamente com ureia (16,8g de ureia por litro)

²A amostra foi considerada positiva para a presença de uréia (+) quando houve desenvolvimento da cor levemente rósea no leite.

Para garantir que as amostras de leite não contivessem ureia exógena, as mesmas foram obtidas diretamente na unidade ordenha e pasteurização da Fazenda Escola da UENP-CLM. A razão da fervura

prévia do leite foi para interromper a produção de ácido láctico, pela flora láctea, que reagiria com o hidróxido de amônio formado, interferindo na alcalinização do meio. Também foi necessária a neutralização da acidez normal do leite, que varia de 1,3 a 1,8 g/L em ácido láctico (BRASIL, 2011) para que essa não neutralizasse o hidróxido de amônio formado. Quanto à alcalinidade produzida pela decomposição da ureia natural do leite, essa não foi suficiente para revelar a cor da fenolftaleína, pois, segundo Guimarães et al. (2012) este indicador só é revelado em $\text{pH} \geq 8,3$. De acordo com Meyer et al. (2006) os teores normais de nitrogênio ureico no leite variam de 2,22 a 23,9 mg/dL.

As 4 amostras naturais de leite pasteurizado e as 16 amostras, adicionadas de 5, 10, 15 e 20 mL de solução 16,8g/L de uréia a cada 100 mL de amostra de leite pasteurizado, se apresentaram dentro dos parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011) para índice crioscópico (-0,530 a -0,550°H), o que evidencia que a adição de ureia pode compensar a adição de água, mascarando os resultados da crioscopia.

Nas análises para detecção de ureia exógena no leite, os resultados do método proposto se mostraram satisfatórios, já que foi negativo para as amostras não adicionadas de uréia e positivos para as demais amostras. Entretanto, só foram testado leite de uma única origem, fazendo-se necessário um maior número de testes com leites de diferentes origens para melhorar a confiabilidade do método.

Esse método tem mais um caráter didático-pedagógico no ensino da química com alunos do ensino médio bolsistas do PIBIC-Jr UENP/CNPq, para exercício da cidadania, do que propriamente ser um método confiável para a detecção de ureia exógena no leite. Entretanto, o método se mostrou eficaz na detecção de uréia exógena quando adicionada para compensar adição de água igual ou superior a 5% de modo a mascarar a análise crioscópica.

CONCLUSÃO

A adição de ureia à água adicionada ao leite mascara os resultados na análise crioscópica de detecção de molhagem.

O método proposto se mostrou eficaz na detecção de ureia exógena no leite.

REFERÊNCIAS

- ATKINS, P.; DE PAULA, J. **Atkins, física-química**. Rio de Janeiro: LTC, v.1. 2008. 589p.
- BRASIL. MAPA. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. **D.O. U.**, p.6-11. Brasília, 30 de dezembro de 2011. Disponível em: <www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?data=30/12/2011&jornal=1&pagina=6&totalArquivos=160> Acesso em: 29 Mai 2013.
- DAILY TIMES. Monitoring food and condiments exports. **Daily Times**. Lahore Pakistan, 13 Set. 2012. Disponível em: <goo.gl/GaaQXJ>. Acesso em: 25 Ago 2013.
- ESTADAO. Itália apreende contêineres de leite chinês contaminado. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 16 Out. 2008. Disponível em: <goo.gl/XMAJbG>. Acesso em: 25 Ago 2013.
- ESTADÃO. RS detecta fraude em mais duas amostras de leite. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 10 Mai. 2013. Disponível em: <goo.gl/BSOrFU> Acesso em: 16 ago 2013.
- FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Quím. Nova**, v.25, n.3, 2002. Disponível em: <dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000300019>. Acesso em: 25 Ago 2013.
- FOLHA. Polícia prende suspeitos de alterar leite no RS. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 08 Mai. 2013. Disponível em: <goo.gl/JUV8Zj> Acesso em: 16 ago 2013.
- FRANCE24. Le bilan du scandale de la mélamine s'alourdit. **France24**, Paris, 02 Dez, 2008. Disponível em: <goo.gl/Zlly9O>. Acesso em: 25 Ago 2013.

GUIMARAES, W; ALVES, M.I.R.; ANTONIOSI FILHO, N.R. Antocianinas em extratos vegetais: aplicação em titulação ácido-base e identificação via cromatografia líquida/espectrometria de massas. **Quím. Nova**, v. 5, n.8, 2012. Disponível em: <[dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012000800030](https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000800030)>. Acesso em: 25 Ago 2013.

MEYER, P, M. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.3, suppl., p. 1114-1121. 2006. Disponível em: <[dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000400024](https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000400024)>. Acesso em: 25 Ago 2013.

OGLOBO. Até 15 milhões de litros de leite foram contaminados com formol no Rio Grande do Sul. **O Globo**, Rio de Janeiro, 05 Mai. 2013. Disponível em: <glo.bo/11kBPk3>. Acesso em: 16 ago 2013.

OLIVEIRA, D. A. **Interferência da Adição de Ureia e Água na Qualidade do Leite Cru Refrigerado**. 63f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2009. Disponível em: <goo.gl/6vvFZ>. Acesso em: 25 Ago 2013.

REUTERS. Most milk in India contaminated or diluted. **Thomson-Reuters**, New York, 10 Jan. 2012. Disponível em: <goo.gl/EbzSQ7>. Acesso em: 25 Ago 2013.