

# Determinação dos limites de detecção para conservadores químicos com base nos métodos qualitativos oficiais de análise em leite

DETERMINATION OF DETECTION LIMITS FOR CHEMICAL PRESERVATIVES ON THE BASIS OF OFFICIAL QUALITATIVE METHODS OF MILK ANALYSIS

DETERMINACIÓN DE LOS LÍMITES DE DETECCIÓN PARA CONSERVADORES QUÍMICOS COM BASE EN MÉTODOS OFICIALES CUALITATIVOS DE ANÁLISIS EN LA LECHE

**Thainá Souza Santos**

Instituto Federal de Goiás (IFG)/Câmpus Itumbiara  
thainasouza120696@gmail.com

**Henrique Faria Paula**

Instituto Federal de Goiás (IFG)/Câmpus Itumbiara  
henriquefariap@hotmail.com

**Simone Machado Goulart**

Instituto Federal de Goiás (IFG)/Câmpus Itumbiara  
simone.goulart@ifg.edu.br

**Leonardo Magalhães de Castro**

Instituto Federal de Goiás (IFG)/Câmpus Itumbiara  
leonardo.castro@ifg.edu.br

**João Paulo Victorino Santos**

Instituto Federal de Goiás (IFG)/Câmpus Itumbiara  
joao.santos1@ifg.edu.br

## Resumo

As condições de qualidade e higiene para o leite cru e derivados lácteos são estabelecidas para a proteção da saúde humana e preservação das propriedades nutritivas desses alimentos. A adição de conservantes ao leite tem como objetivo reduzir ou eliminar os micro-organismos, sendo uma prática proibida e utilizada para mascarar a qualidade inferior do produto. O objetivo deste trabalho foi avaliar os limites de detecção das provas oficiais de análise qualitativa de conservantes químicos. Para a avaliação da sensibilidade analítica das provas para a pesquisa de conservantes (formol, peróxido de hidrogênio e hipoclorito de sódio), foram realizadas três repetições. Em cada alíquota, foi adicionada, separadamente, uma dentre oito concentrações diferentes de cada substância avaliada. Os resultados mostram que o método apresenta faixa não detectável abaixo de 0,002% v/v para formol e peróxido, e abaixo de 0,03% v/v para hipoclorito de sódio. É importante o monitoramento constante da qualidade do leite em toda a cadeia produtiva para evitar o risco de que o leite fraudado chegue ao mercado consumidor. Os métodos oficiais são capazes de detectar baixas concentrações de conservantes químicos, porém deixam uma margem para fraudes que precisa ser avaliada com mais atenção.

**Palavras-chave:** qualidade do leite; Instrução Normativa 68; limite de detecção.

## Abstract

Quality and hygiene conditions for raw milk and dairy products are established to protect human health and preserve the nutritional properties of these foods. The addition of preservatives to milk aims to reduce or eliminate micro-organisms, being a prohibited practice and used to mask the poor quality of the product. The objective of this work was to evaluate the detection limits of official tests of qualitative analysis of chemical preservatives. To evaluate the analytical sensitivity of the tests for the research of preservatives (Formol, Hydrogen Peroxide and Sodium Hypochlorite) three repetitions were carried out. In each aliquot were added, separately, one of eight different concentrations of each evaluated substance. The results obtained show that the method presents an undetectable range below 0.002% v/v for formaldehyde and peroxide and below 0.03% v/v for sodium hypochlorite. It is important to constantly monitor the quality of the milk throughout the production chain so that there is no risk of fraudulent milk reaching the consumer. The official methods are capable of detecting low concentrations of chemical preservatives, but they leave a margin for fraud that needs to be better evaluated.

**Keywords:** milk quality; Normative Instruction 68; detection limit.

## Resumen

Se establecen condiciones de calidad e higiene de la leche cruda y los productos lácteos para proteger la salud humana y preservar las propiedades nutricionales de esos alimentos. La adición de conservantes a la leche tiene como objetivo reducir o eliminar los microorganismos, siendo una práctica prohibida y utilizada para enmascarar la mala calidad del producto. El objetivo de este trabajo fue evaluar los límites de detección de pruebas oficiales de análisis cualitativo de conservantes químicos. Para evaluar la sensibilidad analítica de las pruebas para la investigación de conservantes (Formol, Peróxido de Hidrógeno e Hipoclorito de Sodio) se realizaron tres repeticiones. En cada alícuota se agregaron, por separado, una de ocho concentraciones diferentes de cada sustancia evaluada. Los resultados obtenidos muestran que el método presenta un rango indetectable por debajo de 0,002% v/v para formaldeído y peróxido y por debajo de 0,03% v/v para hipoclorito de sodio. Es importante monitorear constantemente la calidad de la leche a lo largo de la cadena de producción para que no haya riesgo de que la leche fraudulenta llegue al consumidor. Los métodos oficiales son capaces de detectar bajas concentraciones de conservantes químicos, pero dejan un margen para el fraude que debe evaluarse mejor.

**Palabras clave:** calidad de la leche; Instrucción Normativa 68; límite de detección.

## Introdução

O leite é considerado um dos alimentos mais completos em termos nutricionais, sendo fundamental para a dieta humana, contudo constitui um excelente substrato para o desenvolvimento de uma grande diversidade de micro-organismos, inclusive os patogênicos (Leite *et al.*, 2000; Timm, 2003). De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Riispoa), é impróprio para consumo humano o leite que apresenta características sensoriais anormais, como a adição de conservadores ou substâncias estranhas à sua composição, com impurezas ou corpos estranhos de qualquer natureza, que contenha, inclusive, resíduos de antibióticos ou inibidores e esteja adulterado ou não atenda aos padrões microbiológicos e físico-químicos definidos em Regulamentos Técnicos Específicos (Brasil, 2011).

A adição de conservantes como cloro, hipoclorito, peróxido de hidrogênio e formaldeído está entre as mais citadas na literatura. O objetivo dessas fraudes é o de reduzir ou

eliminar os micro-organismos presentes no leite, prevenindo, assim, as alterações decorrentes da sua multiplicação (Tronco, 2008). As maiores preocupações quanto à qualidade do leite estão associadas ao estado de conservação, à eficiência do seu tratamento térmico e às fraudes, principalmente as relacionadas à adição ou remoção de substâncias químicas ou estranhas à sua composição (Polegato; Rudge, 2003).

O leite pode ser adulterado com água, soro de leite, neutralizantes para mascarar a acidez, conservantes de crescimento microbiano, reconstituintes de densidade e crioscopia, entre outros (Karthek *et al.*, 2011). Diante disso, intensificar a fiscalização e punição, aprimorar esses sistemas de fiscalização, conscientizar produtores, empresas e consumidores em relação à boa qualidade do leite é de extrema importância. Além de afetar o consumidor economicamente, por estar adquirindo um produto de qualidade abaixo da declarada, a adulteração do leite pode representar um risco à sua saúde, dependendo do tipo de substância utilizada na fraude.

Os testes diagnósticos para a detecção de fraude são de suma importância, e sua aplicação incorporada em toda a cadeia produtiva proporciona mais segurança, desde o momento em que é coletado na propriedade rural até a saída como produto final, sendo necessário um processo de produção cada vez mais controlado (Firmino *et al.*, 2010).

Os princípios ativos mais utilizados para a higienização de instalações e equipamentos em propriedades leiteiras e laticínios são os que liberam cloro ativo, como o hipoclorito, em virtude da sua alta eficácia e do baixo custo. Sua estabilidade na presença da matéria orgânica é baixa, podendo dificultar a detecção de resíduos acidentais ou adicionados de forma fraudulenta e limitar a ação conservante dessas substâncias (Cords; Dychdala; Richter, 2001). Quanto ao risco de ingestão, o hipoclorito é corrosivo para a pele e as mucosas, podendo provocar irritação do trato gastrointestinal.

As fraudes por adição de substâncias conservantes são comuns no Brasil, o que comprova falhas no controle de qualidade da indústria e dos órgãos fiscalizadores. Os problemas associados à prática de fraudes por adição dessas substâncias ao leite variam entre prejuízo das características sensoriais e dos processos tecnológicos que envolvem a utilização de culturas lácticas e problemas de toxicidade para os consumidores (Silva, 2013).

Algumas operações realizadas pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (Mapa) merecem destaque, a exemplo da Operação “Leite Compensado” em 2013, que ocorreu no estado do Rio Grande do Sul. Com o intuito de aumentar o volume do leite, era adicionada água sem tratamento, e para reconstituir os padrões do leite, nesse caso o teor de proteína, era adicionada ureia agrícola, que contém formol em sua composição. Em consequência disso, aproximadamente 100 milhões de litros de leite foram contaminados com formaldeído em um ano; e, em contrapartida, o lucro com a fraude foi de R\$ 9,5 milhões (Grizotti, 2013). A adição de ureia agrícola ao leite cru é uma prática utilizada pelos fraudadores com a intenção de mascarar a adição de água, o que leva não só a perdas nutritivas como também a danos à saúde, já que em sua formulação a ureia agrícola contém formol (Anvisa, 2013).

As operações que visam detectar fraudes nos alimentos, como a adição de conservantes ao leite, embora muito importantes, não podem ser a única ferramenta de combate. Além dessas, também é necessária uma atuação diária quanto à inspeção industrial realizada de forma eficiente pelos fiscais sanitários, tais como campanhas recorrentes de conscientização de todos os envolvidos na cadeia produtiva, mais pesquisas de avaliação e criação de metodologias eficientes e comprometimento com a divulgação dessas notícias, para que o leite passe a ser um produto de qualidade reconhecida nacional e internacionalmente, ganhando toda a cadeia produtiva.

A legislação determina a pesquisa diária de substâncias inibidoras do crescimento microbiano na recepção do leite cru refrigerado. Nesse caso, existem provas específicas para a pesquisa de cloro, hipoclorito, peróxido de hidrogênio e formaldeído (Brasil, 2006). A fiscalização da qualidade do leite deve envolver um controle laboratorial rigoroso, respeitando o que é preconizado pela legislação vigente. Entretanto, os resultados das análises precisam ser obtidos de forma mais rápida e com menor custo operacional, o que incide também na qualificação de recursos humanos, incluindo um planejamento que permita constante atualização e aperfeiçoamento. Sendo assim, o controle fiscal deve ser adequado à realidade atual e as metodologias de análise, revisadas com mais frequência.

Esta pesquisa tem o objetivo de avaliar o Limite de Detecção (LD) dos conservadores químicos formol, peróxido e hipoclorito em leite in natura, utilizando os métodos oficiais de análise qualitativa. Acerca disso, ressalta-se que o LD é o menor valor de concentração do analito de interesse que pode ser detectado pelo método (Inmetro, 2003).

## Revisão bibliográfica

### A qualidade do leite no Brasil

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, com mais de 34 bilhões de litros por ano e produção em 98% dos municípios brasileiros, com a predominância de pequenas e médias propriedades, empregando cerca de 4 milhões de pessoas. O país conta com mais de 1 milhão de propriedades produtoras de leite, e as projeções do agronegócio da Secretaria de Política Agrícola estimam que, até 2030, permanecerão apenas os produtores mais eficientes, aqueles que se adaptarem à nova realidade de adoção de tecnologia e investirem em melhorias na gestão, proporcionando mais eficiência técnica e econômica (Brasil, 2023).

A qualidade do leite pode ser influenciada por diversos fatores, tais como alimentação, clima, ambiente, uso de medicamentos, condições higiênico-sanitárias, entre outros. O leite, por causa da sua composição nutricional, é um excelente meio para o crescimento de vários grupos de micro-organismos desejáveis e indesejáveis, e sua multiplicação provoca alterações físico-químicas no leite, o que limita sua durabilidade (Souza *et al.*, 2010).

Desse modo, para ser considerado de boa qualidade, o leite deve apresentar composição química, microbiológica (contagem bacteriana total – CBT), organoléptica e contagem de células somáticas (CCS) que atendam aos parâmetros exigidos por lei (Paixão *et al.*, 2014). Para que a contaminação do leite não ocorra, cuidados como a higiene do ordenhador, o tratamento das vacas doentes, a limpeza e desinfecção diária de todos os equipamentos utilizados na ordenha são imprescindíveis. Além disso, o resfriamento do leite logo após essa ordenha e a coleta granelizada (coleta de leite resfriado em grandes volumes) são outras medidas importantes para garantir a qualidade microbiológica do leite, ou seja, a implementação de boas práticas nas etapas de produção e obtenção do leite, chamadas de boas práticas agropecuárias (BPA), é fundamental (Pereira *et al.*, 2018).

Com a pretensão de simplificar o entendimento sobre os prazos e as exigências de qualidade estabelecidos em instruções normativas anteriores e promover um plano mais robusto e duradouro de qualificação dos produtores de leite, o Mapa publicou, em 26 de novembro de 2018, a Instrução Normativa n. 76 e a

Instrução Normativa n. 77. Essas instruções normativas estabeleceram os critérios e procedimentos para a produção, o acondicionamento, a conservação, o transporte, a seleção e a recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial, e ainda revogaram as instruções normativas n. 51/2002, n. 62/2011, n. 07/2016 e n. 31/2018 (Brasil, 2018; Paiva, 2018).

Em relação às modificações na nova legislação, a primeira mudança está relacionada à definição detalhada do Programa de Autocontrole (PAC). O PAC deve dispor sobre o estado sanitário do rebanho, os planos para a qualificação dos fornecedores de leite, os programas de seleção e capacitação de transportadores, os sistemas de cadastro dos transportadores e produtores, além de descrever todos os procedimentos de coleta, transvase e higienização de tanques isotérmicos, caminhões, mangueiras e outros usados na coleta e transporte do leite até o laticínio.

A composição do leite varia de acordo com a espécie, raça, alimentação, individualidade, fase de lactação, entre outros fatores, mas, geralmente, apresenta cerca de 12% a 13% de componentes sólidos, conhecidos como Estrato Seco Total (EST), que constituem a sua parte nutritiva, e aproximadamente 87,5% de água. De acordo com a Tabela 1, é possível observar as distinções percentuais referentes a diferentes espécies.

Espécie/ raça	Gordura (%)	Proteína (%)	Relação proteína/gordura	Lactose (%)	Cinzas (%)	Sólidos totais (%)
Vaca Zebu	4,9	3,9	0,8	5,1	0,8	14,7
Cabra	3,5	3,1	0,9	4,6	0,8	12
Ovelha	5,3	5,5	1,0	4,6	0,9	16,3
Égua	1,6	2,7	1,7	6,1	0,5	11
Humano	4,5	1,1	0,2	6,8	0,2	12,6

**Tabela 1 - Composição química do leite em diferentes raças e espécies**

Fonte: Handbook of milk composition (Jensen, 1995).

Muller e Rempel (2021) analisaram 15 artigos sobre a qualidade do leite em diversas regiões do Brasil publicados entre os anos de 2010 e 2020. A análise dos artigos dessa revisão integrativa demonstrou que os parâmetros físico-químicos não apresentaram alterações significativas na maior parte das amostras analisadas nos estudos em questão. Já em relação aos parâmetros microbiológicos, 93% dos estudos analisados demonstraram alterações microbiológicas no leite, diminuindo, assim, a sua qualidade. Foram verificadas CBT, CCS e contagem de mesófilos e psicrófilos fora dos padrões estabelecidos, contaminação por microrganismos do grupo dos coliformes, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., fungos e presença de antimicrobianos (antibióticos) nas amostras analisadas. A revisão também cita a presença de antibióticos em três artigos, e não focou nos conservadores químicos, indicando a necessidade de mais trabalhos de pesquisa nessa área.

#### Fraudes por substâncias antimicrobianas no leite

Em 2007, uma operação que ficou conhecida como “Ouro Branco” investigou duas cooperativas de laticínios no estado de Minas Gerais, acusadas de adulteração de leite. Segundo as investigações, as fraudes ocorriam com a adição de soro de leite, substâncias conservantes, neutralizantes e reconstituintes (Depoimentos [...], 2007; Peixoto; Baptista, 2007). Em 2014, foi deflagrada a chamada “Operação Leite Adulterado” nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com o objetivo de

investigar e punir os envolvidos em adulteração de leite com sal, soda cáustica, citrato e peróxido de sódio (Operação [...], 2014).

O peróxido de hidrogênio ou água oxigenada não é um contaminante acidental do leite, pois não é utilizado na higienização de utensílios, equipamentos ou na desinfecção dos tetos, e sim em fraudes de leite que visam paralisar a atividade microbiana elevada, indicando risco para a população que consome o leite clandestino (Olieman, 2003).

O formol atua como conservante, reduzindo a microbiota presente e prolongando, com isso, a vida útil (Rodrigues *et al.*, 2013; Wanderley *et al.*, 2013; Abrantes; Campêlo, Silva, 2014). Em razão das suas características de reatividade, ausência de coloração, baixo custo e pureza, é um composto amplamente utilizado na indústria química como agente de produtos de limpeza, na embalsamação de peças anatômicas e em laboratórios (Anvisa, 2013; Cafe, 2015). Contudo, é uma substância comprovadamente cancerígena, mesmo em baixas concentrações.

No Brasil, diferentes autores relatam a presença de substâncias conservantes no leite. Souza *et al.* (2010) pesquisaram fraudes em 100 amostras de leite UHT produzidas em seis estados brasileiros e detectaram 44 amostras positivas para a presença de formaldeído, 30 positivas para peróxido de hidrogênio e 12 positivas para cloro. Em Garanhuns/PE foi detectada a presença de cloro (13%) e peróxido de hidrogênio (20%) em 15 amostras de leite cru (Freitas Filho *et al.*, 2009). Além disso, Rosa-Campos *et al.* (2011) pesquisaram fraudes por adição de neutralizantes e conservantes em 72 amostras de leite pasteurizado produzido no Distrito Federal e detectaram 7 amostras positivas para peróxido de hidrogênio.

A justiça de Mondaí, em Santa Catarina, condenou 16 pessoas por adulteração de leite, que foram apontadas pela acusação por adicionar soda cáustica e peróxido de hidrogênio no produto, e também por crimes contra as relações de consumo e falsidade ideológica. Em 2014, o Ministério Público de Santa Catarina e o Ministério Público do Rio Grande do Sul deflagraram as operações Leite Adulterado 1 e 2. Assim, foi descoberto que parte do produto era fraudado em Vista Alegre, no Rio Grande do Sul, para depois ser enviado à fábrica em Mondaí e distribuído para os dois estados citados e para São Paulo (Santa Catarina, 2014).

Uberti e Pinto (2022) apontam que a fraude mais comum e mais observada em estudos na área se dá pela adição de água, com o objetivo de aumentar o volume. Desse modo, tendo em vista que a adição de água causa modificações na composição do leite, essa fraude normalmente é acompanhada da fraude por adição de reconstituintes. Além disso, outras fraudes comumente observadas acontecem por meio da adição de conservantes e adição de neutralizantes. No tocante a isso, é importante observar que muitos desses produtos utilizados em fraudes podem gerar prejuízos para a saúde do consumidor, sendo um relevante fator de preocupação com relação à saúde pública entre os fiscais e as autoridades. Nesse contexto, os autores defendem que é importante reduzir os pontos de vulnerabilidade na cadeia produtiva do leite para diminuir as ocorrências de fraudes. Assim, é preciso realizar campanhas para a implementação de boas práticas agropecuárias, aplicação de sistemas regulatórios, mais amostragem e monitoramento, treinamento de produtores e manipuladores de alimentos, bem como o desenvolvimento de métodos eficazes, rápidos e econômicos de detecção de fraude.

Ribeiro (2021) destaca que, além da água, existem outras substâncias fraudulentas que podem ser adicionadas: substâncias inibidoras da multiplicação microbiana, como o peróxido de hidrogênio, formol, cloro e hipoclorito; neutralizantes de acidez, como o bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio e soda; reconstituintes de densidade, como o amido, a sacarose, o cloreto de sódio e o soro do leite. Mesmo

sabendo que o manejo correto de práticas higiênicas na ordenha evita a contaminação do leite e a disseminação de micro-organismos responsável pela mastite (infecção que provoca a diminuição na qualidade e no volume do leite), muitos produtores/transportadores de leite preferem fraudar o alimento para aumentar seus lucros, sem se atentar para os riscos dessas substâncias. A fraude na produção de leite é um ato intencional de ganho econômico que resulta na redução da qualidade e segurança do produto. Por conseguinte, é imprescindível que haja uma fiscalização constante tanto do leite cru (matéria-prima) quanto de seus derivados.

## Materiais e Método

### Coleta e preparo das amostras

A avaliação da sensibilidade analítica das provas para a pesquisa de conservantes (formol, peróxido de hidrogênio e hipoclorito de sódio) foi realizada em três repetições. Para cada repetição, utilizou-se aproximadamente 2,0 litros de leite in natura, isento de substâncias estranhas e dentro dos parâmetros exigidos pela legislação (Brasil, 2011). Para a coleta das amostras, foi selecionado um produtor e sua produção acompanhada para garantir que o leite estivesse livre de substâncias estranhas. As amostras foram coletadas em frascos de vidro e transportadas imediatamente para o laboratório em caixa térmica com gelo.

As amostras foram divididas em alíquotas de 100 mililitros, e em cada alíquota foram adicionadas, separadamente, uma entre oito diferentes concentrações de cada substância avaliada, conforme descrito na Tabela 2. Uma alíquota foi destinada ao controle negativo. As concentrações utilizadas no estudo (Tabela 2) foram selecionadas tendo como base as concentrações empregadas em fraudes, descritas pela literatura (Silva, 2013) e por meio de experimentos prévios em laboratório.

Amostra	Formol (%)	Peróxido (%)	Hipoclorito (%)
Controle	0,000	0,000	0,00
1	0,001	0,001	0,01
2	0,002	0,002	0,02
3	0,003	0,003	0,03
4	0,004	0,004	0,04
5	0,005	0,005	0,05
6	0,006	0,006	0,06
7	0,007	0,007	0,07
8	0,008	0,008	0,08

**Tabela 2 - Concentrações dos conservadores a serem utilizados nos experimentos para avaliar a sensibilidade analítica das provas qualitativas**

Fonte: Elaboração própria.

### Detecção da presença de formol

Medir 100 mililitros de leite homogeneizado e passar para o balão de destilação juntamente com 100 mililitros a 150 mililitros de água, acidificar com 2 mililitros de ácido fosfórico p.a. e destilar lentamente, recolhendo cerca de 50 mililitros de destilado. Após isso, colocar em um tubo de ensaio 5 mililitros de solução de ácido



cromotrópico a 0,5% e 1 mililitro de destilado. Colocar em banho-maria durante 15 minutos. O resultado positivo deve apresentar cor violeta, enquanto o resultado negativo deve apresentar cor amarela (Brasil, 2006).

#### Detecção de água oxigenada (peróxidos)

Para detectar a adulteração por adição de água oxigenada, transferiu-se 10 mililitros de leite para um tubo de ensaio, seguido de aquecimento em banho-maria até 35° C. Posteriormente, foram adicionados 2 mililitros de solução hidroalcoólica de guaiacol 1% (v/v) e mais 5 mililitros de leite cru. A cor salmão indica a presença de água oxigenada (Brasil, 2006).

#### Detecção de cloro e hipocloritos

Em um tubo de ensaio, misturou-se 5 mililitros de leite a 0,5 mililitros de solução de iodeto de potássio (7,5% m/v), agitando em seguida. O aparecimento da coloração amarela indica a presença de cloro livre. Para o teste de hipocloritos, adicionou-se no mesmo tubo 4 mililitros de solução de ácido clorídrico/água (1:2), aquecido em banho-maria a 80° C por 10 minutos. Posteriormente, o tubo foi resfriado em água corrente. O aparecimento de coloração amarela indica a presença de hipocloritos (Brasil, 2006).

#### Avaliação dos resultados

Os métodos oficiais de análise de resíduos em leite são qualitativos, apresentando como conclusão os parâmetros positivo e negativo (Brasil, 2006). Amostras positivas são consideradas fraudadas, e as negativas aptas para o recebimento, processamento ou direcionamento ao consumo. Nessa pesquisa, os resultados foram descritos como positivos ou negativos e os valores reais da presença dos conservadores foram tabulados para avaliação.

## Resultados e Discussão

As análises realizadas para avaliar o limite de detecção das substâncias conservadoras inibidoras do crescimento microbiano pelos métodos oficiais estão descritas na Tabela 3.

Amostra	Teor de Formol (%)	Resultado Formol	Teor de Peróxido (%)	Resultado Peróxido	Teor de Hipoclorito (%)	Resultado Hipoclorito
Controle	0,000%	Negativo	0,000%	Negativo	0,00%	Negativo
1	0,001%	Negativo	0,001%	Negativo	0,01%	Negativo
2	<b>0,002%</b>	<b>Positivo</b>	<b>0,002%</b>	<b>Positivo</b>	0,02%	Negativo
3	0,003%	Positivo	0,003%	Positivo	<b>0,03%</b>	<b>Positivo</b>
4	0,004%	Positivo	0,004%	Positivo	0,04%	Positivo
5	0,005%	Positivo	0,005%	Positivo	0,05%	Positivo
6	0,006%	Positivo	0,006%	Positivo	0,06%	Positivo
7	0,007%	Positivo	0,007%	Positivo	0,07%	Positivo
8	0,008%	Positivo	0,008%	Positivo	0,08%	Positivo

**Tabela 3 - LD apresentados pela avaliação das metodologias oficiais de análise de formol, peróxido e hipoclorito em leite**

Fonte: Elaboração própria.

Os resultados encontrados permitem observar que o limite de detecção para presença de formol em leite in natura foi positivo a partir da concentração de 0,002% v/v. Silva *et al.* (2015) encontraram formol em leite in natura a partir de 0,005%, utilizando leite in natura. Os autores confirmaram a boa sensibilidade do método oficial de análise, detectando baixos níveis de formol.

Observando os resultados obtidos e comparando-os aos resultados das análises de Silva *et al.* (2015), o limite encontrado neste trabalho foi inferior, indicando que a mesma metodologia pode apresentar resultados diferentes, possivelmente por causa dos períodos de dopagem das amostras e testagem, que podem influenciar degradando os conservadores.

De acordo com Adriano *et al.* (2014), em uma nova proposta de análise de metodologia de teste rápido, foi constatado a identificação de formol em leite in natura e UHT até valores de 0,001%, o que facilita o controle de qualidade dentro das indústrias. A determinação de formaldeído no leite é constatada por meio de análises qualitativas, com mudanças de coloração bem visíveis. A proposta diminui ainda mais a possibilidade de fraude a níveis muito baixos.

Os efeitos da ingestão de formol ainda não são bem definidos pela literatura, o que demanda mais atenção e preocupação em realizar novos estudos (Cafe, 2015). De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, foi observada uma sensibilidade alta para detectar a presença de formol no leite. Apesar de apresentar uma margem não detectável muito baixa, o método indica que concentrações de formol abaixo de 0,002% podem não ser detectadas, mas o conservante pode estar presente, demonstrando risco à saúde dos consumidores.

Para a análise de água oxigenada (peróxidos), foi observada a sensibilidade para concentrações a partir de 0,002% v/v. Goulart *et al.* (2019) encontraram o limite de peróxido a partir de 0,005% em leite in natura e UHT coletado diretamente em tanques de resfriamento. Todos os tratamentos foram submetidos à metodologia convencional (Instrução Normativa n. 68/2006) em três repetições. Os autores consideraram boa a sensibilidade do método oficial de análise, detectando baixos níveis de peróxido. Tendo em vista os resultados obtidos neste trabalho, é possível observar que o limite de detecção para peróxido é inferior aos apresentados por Goulart *et al.* (2019), demonstrando novamente que a forma em que o método é empregado, o tempo de dopagem da amostra e outros fatores influenciam nos resultados do LD.

A adição de substâncias que inibem o desenvolvimento de micro-organismos no leite cru representa um problema para a indústria de laticínios, inviabilizando a produção de derivados na qual é necessário o uso de culturas lácteas. Segundo Simonaggio *et al.* (2014), essa fraude é difícil de ser detectada, pois, após agir no leite, o peróxido de hidrogênio se transforma em água e sua reação ocorre de forma rápida. Sendo assim, é importante estipular o tempo em que se pode detectar resíduos de peróxido de hidrogênio para realizar a análise química laboratorial com mais confiabilidade. Nesta pesquisa as análises foram realizadas imediatamente após a dopagem, não sendo testados os tempos posteriores.

Nas análises de hipoclorito, o limite encontrado foi a partir de 0,03% v/v de cloro e hipoclorito em leite in natura, porém Silva (2013) encontrou o limite de cloro e hipoclorito a partir de 0,5% em leite UHT pelo método oficial de análise. O hipoclorito, apesar de ser classificado como um agente com amplo espectro de atividade antimicrobiana, é um composto bastante suscetível à inativação pela matéria orgânica (Cords; Dychdala; Richter, 2001), o que ocorre quando entra em contato ou é deliberadamente adicionado ao leite. Essa característica pode explicar a dificuldade na sua detecção pelo método específico estudado quando comparado aos demais conservadores.

A adição de cloro e hipoclorito ao leite pode ser apontada como uma fraude comum, já que, em virtude do seu baixo custo e amplo espectro de ação, são frequentemente empregados na higienização de equipamentos de ordenha e laticínios (Cords; Dychdala; Richter, 2001; Tronco, 2008). Além disso, sua adição intencional ao leite pode representar risco à saúde do consumidor.

Os métodos oficiais de análise de conservadores químicos em leite são obrigatórios na etapa industrial de avaliação das matérias-primas que chegam nas plataformas de recepção. Por serem de fácil e rápida aplicação, tornaram-se o principal meio de combate a fraudes e controle de qualidade desses parâmetros. Novas metodologias vêm sendo pesquisadas como alternativas a esses métodos oficiais para, principalmente, melhorar o limite de detecção desses resíduos.

Guinati e colaboradores desenvolveram um dispositivo microfluídico fabricado em papel capaz de determinar os adulterantes em amostras de leite por meio de reações colorimétricas. O dispositivo foi eficiente para análises qualitativas de peróxido de hidrogênio, pH e ureia, nas quais a alteração da cor é suficiente para indicar a presença do contaminante, assim como para análises quantitativas, nas quais a intensidade da cor apresentada no dispositivo é proporcional à concentração, inclusive a concentração do adulterante pode ser estimada com o auxílio de uma curva analítica (Machado, 2021). Outro método analítico eficiente e preciso para a determinação de peróxido de hidrogênio presente no leite foi desenvolvido por Silva e colaboradores. O método se baseia em análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica. Para a realização das análises, os autores utilizaram apenas 100 mililitros de amostra diluída, e o método é caracterizado pela alta seletividade, sensibilidade, além de alta frequência analítica (Silva *et al.*, 2012).

Machado (2021) desenvolveu uma alternativa de simples manuseio e baixo custo para o monitoramento de fraudes em leite por hipoclorito de sódio, utilizando colorimetria por imagens digitais. O método é baseado no uso de smartphones para coleta de imagens de reações colorimétricas que são tratadas para obter informações dos valores do espaço de cores RGB (*red*, *blue* e *green*), por meio dos quais é possível realizar a quantificação da substância analisada. O método se mostrou aplicável para análise em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.

Canário *et al.* (2023) desenvolveram e validaram um método com sensibilidade de detecção de traços de formaldeído em leite, empregando a técnica de extração líquido-líquido juntamente com o método de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD) no comprimento de onda de 360 nanômetros. O método se mostrou eficiente para detecção no limite de 0,01 miligrama por litro do resíduo, porém não se aplica como técnica de análise rápida para triagem do leite na recepção.

## Considerações finais

As fraudes pela adição de substâncias proibidas no leite são uma realidade na cadeia produtiva. Essas fraudes precisam ser mais amplamente conhecidas e combatidas tanto pela atuação dos órgãos de inspeção sanitária como também pelas empresas processadoras do leite. É importante que os estabelecimentos de laticínios cumpram com sua obrigação de controlar de forma rigorosa a qualidade da matéria-prima recebida diariamente na sua indústria, nos termos da legislação em vigor, por meio de análises como as apresentadas neste trabalho, além de realizar uma ampla campanha de esclarecimento aos seus fornecedores e aplicação de medidas de punição aos fraudadores.

Os resultados obtidos neste trabalho determinaram as concentrações mínimas de algumas das substâncias consideradas fraudulentas, apresentando o LD para formol (0,002% v/v), peróxido (0,002% v/v) e hipoclorito (0,03% v/v), e informando os riscos inerentes à metodologia oficial de análise desses conservadores, uma vez que, mesmo pequena, existe a possibilidade de produtos fraudados terem seus resultados como negativo a partir da aplicação das metodologias oficiais.

Pesquisar esses limites é de grande relevância, evitando que leite de qualidade inferior chegue ao consumidor e que cause problemas na sua saúde. Quanto menor o limite detectado, mais adequado o leite se torna para o consumo. Considerando a importância do assunto, torna-se necessária uma reavaliação das técnicas oficiais e a aplicação de novas metodologias, além da ampliação das medidas de esclarecimento de todos os envolvidos na cadeia produtiva do leite referente ao cumprimento da legislação e dos riscos à saúde.

## 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*, São Paulo, v. 3, p 244-251, 2014.

ADRIANO, J. da C. *et al.* Métodos para Identificação de Formol no Leite Integral UHT (Ultrapasteurizado) correlacionados. *Revista Eletrônica Multidisciplinar Facear*, [s. l.], v. 2, n. 5, p.1-15, 2014.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). *Informe Técnico n. 53*. Esclarecimentos sobre os riscos à saúde das substâncias ureia e formol e sua adição ao leite. Brasília, DF: Anvisa, 2013. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/informes-anexos/54de2014/arquivos/513json-file-1>. Acesso em: 1 jun. 2024.

BRASIL. Instrução normativa n. 62 de 29, de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 29 dez. 2011.

BRASIL. Instrução Normativa n. 76/77 de 26 de novembro de 2018. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, seção 1, n. 230, p.10, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa n. 68, de 12 de dezembro de 2006*. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e Produtos lácteos. Brasília, DF: Departamento de Inspeção de Produto de Origem Animal, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Políticas públicas e privadas para o leite. Brasília, DF: Mapa, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite>. Acesso em: 14 jun. 2023.

CAFE, T. M. *Análise crítica dos métodos de remoção de formaldeído de efluentes domésticos e industriais*. 2015. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 2015.

CANÁRIO, A. C. de S. *et al.* Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação do teor de formaldeído por HPLC em leite. *Evidência Revista*, São Paulo, v. 23, n. 1, p.89-104, 2023.

CORDS, B. R.; DYCHDALA, G. R.; RICHTER, F. L. Cleaning and Sanitizing in Milk Production and Processing. In: MARTH, E. H.; STEELE, J. L. 2. ed. *Applied dairy microbiology*. New York: Marcel Dekker, 2001, p. 547-587.

DEPOIMENTOS revelam como funcionava fraude do leite. Globo G1, [s. l.], 2007. Disponível em: <http://g1.globo.com/Noticias/Brasil/0,,MUL161409-5598,00-DEPOIMENTOS+REVELAM+COMO+FUNCIONAVA+FRAUDE+DO+LEITE.html>. Acesso em: 2 dez. 2021.

FIRMINO, F. C. *et al.* Detecção de fraudes em leite cru dos tanques de expansão da região de rio Pomba, Minas Gerais. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Minas Gerais, v. 65, n.376, p. 5-11, 2010.

FREITAS FILHO, J. R. *et al.* Caracterização físico-química e microbiológica do leite “in natura” comercializado informalmente no município de Garanhuns –PE. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Paraná, v. 3, n. 2, p. 38-46, 2009.

FREITAS, L. F. *Fatores determinantes para a qualidade do leite e derivados*. Monte Carmelo: Editora UniFucamp, 2021.

GOULART, V. C. *et al.* Comparação de métodos qualitativos para a detecção de peróxido de hidrogênio em leite cru e UHT. *Comeia*, Patos de Minas, v. 1, n. 1, p. 51-60, 2019.

GRIZOTTI, G. Ministério Público faz operação contra adulteração de leite no RS. *Globo G1*, [s. l.], 2013. Disponível em: <https://g1.globo.com/rs/rio-grande-do-sul/noticia/2013/05/ministerio-publico-faz-operacao-contradulteracao-de-leite-no-rs.html>. Acesso em: 21 nov. 2024. INCA (Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva). Formol ou formaldeído. Rio de Janeiro: Inca, ano. Disponível em: [http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?ID=795](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=795). Acesso: 20 dez. 2023.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia). *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*. Rio de Janeiro: Inmetro, 2003.

JENSEN, R. G. *Handbook of Milk Composition*. New York: Academic Press, 1995.

KARTHEEK, M.; SMITH, A. A.; MUTHU, A. K.; MANAVALAN, R. Determination of Adulterants in Food: A Review. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 629-636, 2011.

LEITE JR, A. F. S.; TORRANO, A. D. M.; GELLI, D. S. Qualidade microbiológica do leite tipo C pasteurizado, comercializado em João Pessoa, Paraíba. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 14, n. 74, p. 45-49, 2000.

MACHADO, M. R. Pesquisadores desenvolvem sensor que identifica adulterantes em leite. *Jornal UFG*, Goiás, 2021. Disponível em: <https://jornal.ufg.br/n/137432-pesquisadores-desenvolvem-sensor-queidentifica-adulterantes-emleite#:~:text=Os%20pesquisadores%20criaram%20um,de%20amido%20e%20c> aseína. Acesso em: 1 out. 2024.

MULLER, T.; REMPEL, C. Qualidade do leite bovino produzido no Brasil – parâmetros físico-químicos e microbiológicos: uma revisão integrativa. *Vigilância Sanitária em Debate*, Rio de Janeiro, v. 9, n. 3, 2021.

OLIEMAN, C. Detecting Taints from Cleaning and Disinfecting Agents. In: LELIEVELD, H. L. M.; MOSTERT, M. A.; HOLAH, J.; WHITE, B. *Hygiene in food processing*. Cambridge: Woodhead, 2003. p. 279-287.

OPERAÇÃO Leite Compensado 7 tem 16 presos e posto interditado no RS. *Globo G1*, Rio Grande do Sul, 2014. Disponível em: <http://g1.globo.com/rs/rio-grande-do-sul/campo-elavoura/noticia/2014/12/operacao-leite-compensado-7-tem-16-presos-e-posto-interditado-nors.html>. Acesso em: 14 jun. 2023.

PAIVA, C. A. V. Instruções Normativas para Melhoria da Qualidade do Leite no Brasil. *REPI Leite: Rede de Pesquisa e Inovação em Leite*, Brasília, DF, 2018.

PAIXÃO, M. G. *et al.* Impacto econômico da implantação das boas práticas agropecuárias relacionadas com a qualidade do leite. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 5, n. 61, p. 612-21, 2014.

PEIXOTO, P.; BAPTISTA, R. Presa quadrilha acusada de adulterar leite. *Estadão*, [s. l.], 2007. Disponível em: <http://www.estadao.com.br/noticias/geral,pf-prende-25-por-fraude-em-leite-longa-vida>. Acesso em: 14 jun. 2023.

PEREIRA, N. I. B. *et al.* Aplicação das boas práticas agrícolas na produção de leite. *Pubvet*, [s. l.], v. 5, n. 12, p. 1-8, 2018.

POLEGATO, E. P. S.; RUDGE, A. C. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini usinas da região de Marília – São Paulo/ Brasil. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 56-63, 2003.

RIBEIRO, L. F. *Fatores determinantes da qualidade do leite*. Minas Gerais: Editora Fucamp, 2021.

RODRIGUES, E.; CASTAGNA, A. A.; DIAS, M. T.; ARONOVICH, M. Qualidade do leite e derivados: Processos, processamento tecnológico e índices. *Niterói: Programa Rio Rural*, Rio de Janeiro, 2013.

ROSA-CAMPOS, A. A. *et al.* 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*, Brasília, DF, n. 379, v. 66, p. 30-34, 2011.

SANTA CATARINA. Ministério Público de Santa Catarina. Presos na Operação Leite Adulterado III são ouvidos pelo GAECO. Santa Catarina: Ministério Público de Santa Catarina, 2014. Disponível em: <https://www.mpsc.mp.br/noticias/presos-na-operacao-leite-adulterado-iii-sao-ouvidos-pelo-gaeco>. Acesso em: 6 dez. 2021.

SILVA, L. C. C. da. *Capacidade de detecção de adulterações e suficiência das provas oficiais para assegurar a qualidade do leite pasteurizado*. 2013. Tese (Doutorado em Ciência Animal) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, 2013.

SILVA, L. C. C. *et al.* Preservatives and neutralizing substances in milk: analytical sensitivity of official specific and nonspecific tests, microbial inhibition effect, and residue persistence in milk. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 45, n. 9, p. 1613-1618, 2015.

SILVA, R. A. B. *et al.* Rapid and selective determination of hydrogen peroxide residues in milk by batch injection analysis with amperometric detection. *Food Chemistry*, [s. l.], v. 133, n. 1, p. 200-204, 2012.

SIMONAGGIO, D. *et al.* Avaliação da eficiência da detecção da fraude por adição de peróxido de hidrogênio no leite. In: XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2014, Rio Grande do Sul. *Anais [...]*. Rio Grande do Sul: Universidade de Santa Cruz do Sul, 2014.

SOUZA, A. H. P. de. *et al.* Avaliação Físico-Química do leite UHT e pasteurizado comercializado na cidade de Londrina- PR. *Revista Brasileira de pesquisa em Alimentos*, Paraná, v. 1, n. 1, p. 39-42, 2010.



TIMM, C. D. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado integral, produzido em micro-usinas da região sul do Rio Grande do Sul. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 100-104, 2003.

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

UBERTI, A.; PINTO, A. T. *O leite e suas principais fraudes*. Porto Alegre: Editora Científica Digital, 2022.

WANDERLEY, C. H. *et al.* Avaliação da Sensibilidade de Métodos Analíticos Para Verificar Fraude em Leite Fluido. *Revista de Ciências da Vida*, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 54-63, 2013.