



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

---

**ESTUDO SOBRE A INTERFERÊNCIA DA GORDURA E DA  
TEMPERATURA NO DESEMPENHO DE TESTES ANALÍTICOS PARA  
DETECÇÃO DE FORMOL ADICIONADO NO LEITE**

Francisco Leonardo Richard Reis.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia de Aguiar Ferreira.

BRASÍLIA – DF  
DEZEMBRO/2019



FRANCISCO LEONARDO RICHARD REIS

**ESTUDO SOBRE A INTERFERÊNCIA DA GORDURA E DA  
TEMPERATURA NO DESEMPENHO DE TESTES ANALÍTICOS PARA  
DETECÇÃO DE FORMOL ADICIONADO NO LEITE**

Trabalho de conclusão de curso de  
graduação em Medicina Veterinária,  
apresentado junto à Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária da  
Universidade de Brasília.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Márcia de Aguiar Ferreira.

BRASÍLIA – DF  
JULHO/2019

Reis, Francisco Leonardo Richard.

Estudo sobre a interferência da gordura e da temperatura no desempenho de testes analíticos para detecção de formol adicionado ao leite / Francisco Leonardo Richard Reis; orientação de Márcia de Aguiar Ferreira. – Brasília, 2019.

27 p. : il.

Trabalho de conclusão de curso de graduação – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2019.

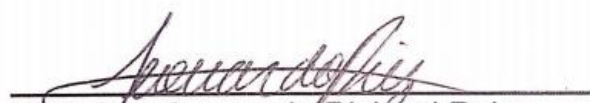
## Cessão de Direitos

Nome do Autor: Francisco Leonardo Richard Reis.

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: Estudo sobre a interferência da gordura e da temperatura no desempenho de testes analíticos para detecção de formol adicionado ao leite.

Ano: 2019

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.



Francisco Leonardo Richard Reis  
e-mail: leorichardunb@gmail.com

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: REIS, Francisco Leonardo Richard.

Título: Estudo sobre a interferência da gordura e da temperatura no desempenho de testes analíticos para detecção de formol adicionado ao leite.

Trabalho de conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária, apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em: 09 / 12 / 2019.

Banca Examinadora

Prof. Dra. Marcia de Aguiar Ferreira

Instituição: UnB

Julgamento: Aprovado

Assinatura: Marcia de Aguiar Ferreira

Prof. Dra. Sabrina dos Santos Costa Poggiani

Instituição: UnB

Julgamento: Aprovado

Assinatura: Sabrina

Prof. Dr. Marcio Antônio Mendonça

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: Aprovado

Assinatura: Marcio

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais, que me deram sempre todo incentivo e condições ao estudo e crescimento intelectual, me proporcionando sempre condições e acesso a ensino privilegiadamente de qualidade.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia de Aguiar Ferreira, mais que professora, uma amiga, sempre solícita e interessada ao meu crescimento como aluno e indivíduo, me ajudando repetidamente a atingir conhecimento.

Às profissionais do laboratório, Jaqueline Lamounier, em todo momento paciente e prestativa, e professora Sabrina dos Santos Costa Poggiani, que além de me ensinar fisiologia sempre encantou com humildade e sabedoria.

À Gabriela Barbosa e à Dannyele van Landuyt por compartilharem os nossos projetos e por toda ajuda e amizade no laboratório.

Às amigas que fiz na faculdade, especialmente Gabriela Rezende, Giulianna Obeid, Gabriela Galiza, Cecília Granato, Savana Alves e Marina Reis, que estiveram ao meu lado durante o curso.

À minha esposa, Ligia Pereira Rodrigues, que além de todo amor e apoio, me permitiu ser pai e constituir nossa família, e à minha filha Júlia, que me mostra a cada dia o que é o verdadeiro amor.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS .....	4
3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	5
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	8
5	CONCLUSÕES.....	133
6	REFERÊNCIAS .....	144

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

**Quadro 1:** Concentrações de formol avaliadas..... 6

**Tabela 1:** Resultados das análises para detecção de formol adicionado a leite integral não homogeneizado, mantido em diferentes temperaturas, realizadas com os reagentes Formfix2.0® e FormolFree®..... 9

**Tabela 2:** Resultados das análises para detecção de formol adicionado a leite desnatado mantido em diferentes temperaturas, realizadas com os reagentes Formfix2.0® e FormolFree® ..... 10

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Comparação de resultado da adição do reagente Formfix2.0® em leite sem formol, à direita (precipitação) com leite sem adição do reagente **Erro! Indicador não definido.2**

**Figura 2:** Demonstração de intensidade de tonalidade envolvendo diferentes concentrações (da esquerda para direita: 0,5%, 0,1%, 0,05%, 0,03% e 0,01% em 25°C). ..... **Erro! Indicador não definido.2**



## RESUMO

O leite é um dos alimentos mais implicados em fraudes com o propósito de adulterar a qualidade e a obtenção de vantagens econômicas. A adição de formol diminui ou até elimina a microbiota presente no leite atuando como um conservante, entretanto a metodologia oficial para pesquisa de formol no leite é laboriosa e demorada. O presente trabalho avaliou a metodologia convencional e dois testes rápidos comerciais na detecção de formol adicionado ao leite mantido em diferentes graus de temperatura e a interferência da gordura na interpretação dos resultados. Foram avaliadas diferentes concentrações de formol (0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,03%, 0,05%, 0,1% e 0,5%) em leite pasteurizado integral não homogeneizado e em leite UAT desnatado, que foram mantidas em temperaturas de 4°C, 7°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C. Os resultados demonstraram que a metodologia convencional detectou o formol em todas as concentrações e os resultados não sofreram interferência da gordura do leite. O reagente Formfix2.0® apresentou resultados falso negativos nas menores concentrações (0,001%, 0,005% e 0,01%) observando-se interferência da temperatura no desenvolvimento da reação. O reagente FormolFree® também apresentou resultados falso negativos, mas apenas na concentração 0,001% e quando em temperaturas de 7°C e 4°C. Esses resultados indicam que há necessidade de aprimoramento dos reagentes químicos comerciais e de suas indicações por parte dos fabricantes, principalmente em relação à temperatura da amostra no momento das análises.

**Palavras-chave:** Formfix2.0®; fraude do leite; teor de gordura; leite integral; leite desnatado.

## ABSTRACT

Milk is one of the foods most implicated in fraud for the purpose of tampering quality and obtaining economic advantages. The addition of formalin decreases or even eliminates the microbiota present in milk acting as a preservative, however, the official methodology for researching formalin in milk is laborious and time-consuming. This present work evaluated the conventional methodology and two commercial rapid tests for formalin added to milk detection, maintained at many different temperatures degrees, and the interference of fat in the interpretation of results. Different formalin concentrations (0.001%, 0.005%, 0.01%, 0.03%, 0.05%, 0.1% and 0.5%) were evaluated in unhomogenized whole pasteurized milk and skimmed UHT milk, that were kept at temperatures of 4°C, 7°C, 15°C, 20°C, 25°C and 30°C. The results showed that the conventional methodology was sensitive at all concentrations and the results were not affected by fat content. The Formfix2.0® reagent showed false-negative results at the lowest concentrations (0.001%, 0.005% and 0.01%) observing temperature interference in the development of the colorimetric reaction. The FormolFree® reagent also showed false negative results, but only at 0.001% concentration and at temperatures of 7°C and 4°C. These results indicate that there is a need for commercial chemical reagents improvement and their indications by manufacturers, especially regarding the sample temperature at the moment of analysis.

**Keywords:** Formfix2.0®; milk fraud; fat content; skimmed milk; whole milk.

## 1 INTRODUÇÃO

O leite é um dos alimentos mais importantes, tanto nutritivamente, pois é composto por proteínas de alto valor biológico, carboidratos, ácidos graxos, sais minerais, vitaminas essenciais e ótima fonte de cálcio, como economicamente, já que a produção brasileira de leite está entre as maiores do mundo, e a produção nacional em 2018 foi de 33,8 bilhões de litros, sendo 1,6% maior que no ano anterior (MILKPOINT, 2019). A Empresa de Assistência Técnica e Extensão (EMATER) de Rondônia verificou que em 2018 mais de um terço das propriedades rurais do estado se dedicavam a produção leiteira, sendo a atividade que mais gerou postos de trabalho e melhor distribuiu renda em muitos municípios, injetando quase R\$ 53.000.000 no mercado a cada mês (EMATER 2018).

Por ser um produto perecível, o leite necessita de atenção especial em todas as etapas da produção, desde a coleta na propriedade rural, passando pelo transporte, beneficiamento, comercialização e até o consumo, pois está sujeito a alterações na sua composição, e algumas vezes, provenientes de adulteração de forma intencional (SCHERER, 2015). Portanto, a qualidade do leite é uma constante preocupação dos técnicos e autoridades ligados à área de saúde e laticínios (MAREZE *et al*, 2015) e há cada vez mais preocupação da população com a inocuidade e qualidade dos produtos consumidos (CARDOSO, 2014).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define leite, sem outra especificação, como o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas, e o seu regulamento técnico de identidade e qualidade estabelece que o leite, cru e o destinado ao beneficiamento sob o serviço de inspeção oficial, não deve apresentar substâncias estranhas à sua composição tais como agentes inibidores do crescimento microbiano, neutralizantes da acidez e reconstituintes

da densidade ou do índice crioscópico (BRASIL 2017, BRASIL 2018 a, BRASIL 2018 b).

Além de zelar pela segurança alimentar da população, o MAPA é também o órgão responsável pela fiscalização da fabricação dos produtos de origem animal nas indústrias (SOUSA, 2016), e apesar disso, a prática de fraudes ocorre de várias formas, com intuito de obter lucros, elevar o volume produzido e mascarar qualidade insatisfatória.

Em 2007 foi realizada a operação Ouro Branco, pelo Ministério Público Federal em Minas Gerais juntamente com a Polícia Federal, em que foi descoberto um esquema de adulteração do leite em indústrias, onde químicos utilizavam uma fórmula contendo substâncias conservantes, neutralizantes e reconstituíntes (OLIVEIRA 2007). Já no Rio Grande do Sul, o Ministério Público juntamente com o MAPA, criaram a Operação Leite Compensado, investigando transportadoras de leite que adicionavam água e substância semelhante à ureia (BRAGA 2013). Mais recentemente, em Morrinhos, Goiás, dupla de transportadores foi presa enquanto desviava parte da carga de leite que transportava, adulterando a mesma quantidade retirada com água para que não fosse entregue volume diferente (GONÇALVES, 2019).

De acordo com a legislação vigente, o controle diário do leite recebido pela indústria deve englobar as análises de temperatura, teste do álcool ou alizarol, acidez titulável, índice crioscópico, densidade relativa a 15°C, teor de gordura, pesquisa para fosfatase alcalina e peroxidase (quando a matéria prima for oriunda de usina), teor de sólidos totais e sólidos não gordurosos, pesquisa para neutralizantes da acidez, reconstituíntes da densidade e de inibidores de crescimento microbiano (BRASIL,2018 a).

O formol atua como conservante, reduzindo ou eliminando a microbiota presente de forma fraudulenta (PINHEIRO, 2016). Leite com elevada carga microbiana apresenta pH ácido, e acidez titulável elevada, detectados em testes de triagem na recepção do leite, provocando recusa do leite em laticínios (ABRANTES et al., 2014). Ele é rapidamente absorvido no trato respiratório e gastrointestinal, é considerado tóxico se inalado, e carcinogênico se ingerido, sendo associado a tipos de câncer se exposto cronicamente, como os de nasofaringe e leucemia (BONEFÁCIO, 2016).

Várias técnicas foram reportadas para detecção de formol em diversas condições e amostras, de forma direta ou indireta, como cromatografia líquida, eletroquimioluminescência, espectrofotometria e fluorimetria (MARTINS *et al*, 2017), sendo que os testes analíticos realizados nas indústrias devem ter as mesmas metodologias oficiais preconizadas na legislação vigente, entretanto a metodologia oficial para pesquisa de formol no leite é laboriosa e demorada, dificultando sua realização pelas indústrias, desestimulando sua utilização (BONEFÁCIO, 2016).

Por isso, técnicas de rotina e triagem devem ser utilizadas e novas metodologias são desenvolvidas em resposta à necessidade (ABRANTES *et al*., 2014), sendo os resultados analíticos, além de confiáveis, devendo ser obtidos de forma mais rápida e com menor custo operacional possível, resultando em benefícios a todos envolvidos na cadeia produtiva do leite (FURTADO, 2010).

O reagente Formfix2.0® foi desenvolvido por empresa (Macofren Tecnologias Químicas LTDA) que se iniciou incubada na UnB – Universidade de Brasília e, de acordo com o fabricante é um teste rápido colorimétrico para detecção de formol no leite e que visa praticidade no controle de qualidade desse alimento.

Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivos avaliar o desempenho do teste rápido Formfix2.0®, em comparação com a metodologia oficial e a de outro reagente comercial, na detecção de formol adicionado ao leite e ainda, se ocorre interferência da gordura e da temperatura do leite no desenvolvimento das análises.

## **2 OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

- Avaliar a interferência da gordura e da temperatura no desempenho de testes rápidos para detecção de formol adicionado no leite.

### **Objetivos específicos**

- Verificar se a gordura interfere na detecção de formol adicionado ao leite pelos métodos rápidos e colorimétricos Formfix2.0® e FormolFree®.
- Avaliar se diferentes graus de temperatura interferem no desenvolvimento das reações para detecção de formol adicionado ao leite, pelos reagentes Formfix2.0® e FormolFree®.
- Avaliar o desempenho do teste rápido Formfix2.0® na detecção de formol adicionado ao leite em comparação com a metodologia convencional.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### *Origem das amostras de leite e avaliação da qualidade*

Os leites utilizados foram pasteurizado integral não homogeneizado e UAT – Ultra Alta Temperatura – desnatado, obtidos no comércio local, sendo o leite tipo pasteurizado acondicionado e mantido refrigerado até o momento das análises.

Após higienização das embalagens e vigorosa homogeneização manual os leites eram submetidos às análises físico-químicas por meio da determinação dos teores de proteína, lactose, gordura, sólidos não gordurosos e densidade, em equipamento ultrassônico EKOMILK®. O índice crioscópico foi determinado por meio do ponto de congelamento em crioscópio digital (LAKTRON®). Também foram determinados: o teor de acidez titulável (método Dornic), a atividade das enzimas fosfatase alcalina por método diagnóstico comercial (Bioclin) e, a peroxidase de acordo com a metodologia preconizada Manual de Métodos Oficiais para Análises de Alimentos de Origem Animal (BRASIL c 2018).

Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Análises de Leite e Derivados (LabLeite), da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília (UnB).

#### *Metodologias para detecção de formol adicionado ao leite*

Metodologia convencional: conforme contido no Manual de Métodos Oficiais de Análises de Alimentos de Origem Animal, 2018, que consiste em acidificar 100 mL de leite acrescido de 100 mL de água destilada, com 1,0 mL de ácido fosfórico. Em seguida, submeter 50 mL da mistura resultante ao processo de destilação; após, 1,0 mL do destilado deve ser transferido para tubo de ensaio

e acrescido de 5,0 mL de ácido cromotrópico a 0,5%; na sequência, essa a solução deve ficar por 15 minutos em banho maria, em temperatura de ebulição, para observação da cor formada. O resultado positivo gera coloração violácea. (BRASIL, 2006). Foi realizada uma repetição de cada concentração e tratamento.

Teste reagente Formfix2.0®: de acordo com as recomendações do fabricante que consistem na adição de 1,0 mL do reagente a 1,0 mL de leite, e após 5 minutos observar o desenvolvimento ou não, de coloração violácea que indica resultado positivo (não alteração da cor significa resultado negativo). Cada concentração de cada tratamento foi submetida a três repetições.

Teste reagente comercial: utilizou-se o teste comercial FormolFree®, também qualitativo colorimétrico, e foram seguidas as recomendações do fabricante (1,0 mL do reagente em 1,0 mL de leite); aguardando de 2 a 5 minutos, se desenvolvimento de coloração amarela, indica resultado positivo para formol (não alteração da cor significa resultado negativo).

### **Primeiro estudo: Avaliação da interferência da gordura no desempenho do Formfix2.0® FormolFree® na detecção de formol adicionado ao leite**

#### *Concentrações de formol e tratamentos*

Foi adicionado formol ao leite, com as diferentes concentrações constantes no Quadro 1, além do controle negativo, obtidos a partir da fórmula:  $C_{inicial} \cdot V_{inicial} = C_{final} \cdot V_{final}$ , em que  $C$  corresponde a concentração e  $V$  ao volume.

**Quadro 1:** Concentrações de formol avaliadas.

<b>Concentração de formol adicionado</b>	<b>Volume de formol adicionado</b>
Leite não adulterado	400 mL de leite
0,001%	399,99 mL de leite + 0,01 mL de formol
0,005%	399,95 mL de leite + 0,05 mL de formol
0,01%	399,90 mL de leite + 0,10 mL de leite
0,03%	399,70 mL de leite + 0,30 mL de formol
0,05%	399,50 mL de leite + 0,50 mL de formol
0,1%	398,92mL de leite + 1,08 mL de formol
0,5%	394,60 mL de leite + 5,40 mL de formol



Essas concentrações foram avaliadas com leite integral (Ti) e com leite desnatado (Td) sendo que cada concentração foi avaliada em três repetições.

### **Segundo estudo: Avaliação da interferência da temperatura no desempenho do Formfix2.0® e FormolFree® na detecção de formol adicionado ao leite**

#### *Concentrações de formol e tratamentos*

Foram utilizadas as mesmas concentrações do estudo anterior e com os mesmos tipos de leite (pasteurizado integral não homogeneizado e UAT desnatado); o Formfix2.0® e o FormolFree® foram avaliados em amostras nas seguintes temperaturas: 4°C, 7°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C.

Para isso, 1,0 mL de cada concentração de leite adicionado de formol foram pipetados em tubos de ensaio, mantidos em estante própria e mergulhados em água cuja temperatura foi ajustada conforme o tratamento avaliado. Para correta determinação da temperatura no interior dos tubos foi utilizado um tubo controle, contendo o mesmo volume e com monitoramento por termômetro; ao se atingir a temperatura de análise os reagentes foram adicionados de acordo com especificações do fabricante, admitindo variação de temperatura de  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises físico-químicas realizadas nos leites, pasteurizado e UAT, utilizados indicaram que as amostras se encontravam dentro dos padrões de normalidade (BRASIL c 2018, BRASIL 1997) para utilização nos estudos deste trabalho.

A metodologia convencional oficial para a pesquisa de formol, preconizada no Manual de Métodos Oficiais de Análises de Alimentos de Origem Animal, 2018, foi realizada para comprovar a presença de formol nas amostras e mostrou-se sensível na detecção dessa substância nas diversas concentrações e nas duas variações de teor de gordura utilizados, assim como constatou Pinheiro, 2016, ao avaliar versão anterior desse mesmo reagente.

Os resultados obtidos das análises com os reagentes Formfix2.0® e FormolFree® estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, com leite integral e desnatado, respectivamente; os resultados foram registrados de acordo com a apresentação (+) ou não (neg) de reação colorimétrica dentro do tempo preconizado pelos fabricantes, ou seja, em até cinco minutos para os dois reagentes.

**Tabela 1:** Resultados das análises para detecção de formol adicionado a leite integral não homogeneizado, mantido em diferentes temperaturas, realizadas com os reagentes Formfix2.0® e FormolFree®.

	Concentrações	Temperatura (°C)					
		30°	25°	20°	15°	7°	4°
<b>Formfix2.0®</b>	<b>sem formol</b>	neg	neg	neg	neg	neg	Neg
	<b>0,001%</b>	+	+	neg	neg	neg	Neg
	<b>0,005%</b>	+	+	+	neg	neg	Neg
	<b>0,01%</b>	+	+	+	+	+	Neg
	<b>0,03%</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>0,05%</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>0,1%</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>0,5%</b>	+	+	+	+	+	+
<b>FormolFree®</b>	<b>0,001%</b>	+	+	+	+	neg	Neg
	<b>0,005%</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>0,01%</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>0,03%</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>0,05%</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>0,1%</b>	+	+	+	+	+	+
	<b>0,5%</b>	+	+	+	+	+	+

**Tabela 2:** Resultados das análises para detecção de formol adicionado a leite desnatado mantido em diferentes temperaturas, realizadas com os reagentes Formfix2.0® e FormolFree®.

	Concentrações	Temperatura (°C)					
		30°	25°	20°	15°	7°	4°
Formfix2.0®	sem formol	neg	neg	neg	neg	neg	Neg
	0,001%	neg	neg	neg	neg	neg	Neg
	0,005%	+	+	+	neg	neg	Neg
	0,01%	+	+	+	+	+	Neg
	0,03%	+	+	+	+	+	+
	0,05%	+	+	+	+	+	+
	0,1%	+	+	+	+	+	+
	0,5%	+	+	+	+	+	+
FormolFree®	0,001%	+	+	+	+	neg	Neg
	0,005%	+	+	+	+	+	+
	0,01%	+	+	+	+	+	+
	0,03%	+	+	+	+	+	+
	0,05%	+	+	+	+	+	+
	0,1%	+	+	+	+	+	+
	0,5%	+	+	+	+	+	+

Os resultados das análises com leite integral, não homogeneizado demonstraram que o reagente Formfix2.0® não detectou o formol adicionado nas concentrações de 0,001%, 0,005% e 0,01% quando em temperaturas a partir de 20°C, 15°C e 4°C, respectivamente, significando resultados falso negativos (Tabela 1).

Esses resultados demonstram possível interferência das baixas temperaturas do leite sobre a reação e, que pode estar relacionada com a composição do reagente que contém ácido clorídrico na sua fórmula, caso o desenvolvimento da coloração esteja associada à reação exotérmica.

Da mesma forma, a temperatura pode ter interferido no desenvolvimento de reação do FormolFree® em leite integral, não homogeneizado acarretando resultados falso negativos na concentração 0,001% e quando em temperaturas de 7°C e 4°C; entretanto não há descrição de sua formulação não sendo possível estabelecer a mesma relação em comparação com o outro reagente.

Quando as análises foram realizadas em leite desnatado foram observados resultados falso negativos com o Formfix2.0® nas concentrações de 0,001%, 0,005% e 0,01% e, em temperaturas a partir de 30°C, 15°C e 4°C, respectivamente (Tabela 2). Novamente observou-se que a temperatura interferiu no desenvolvimento de reação do FormolFree® em leite desnatado, também produzindo resultados falso negativos na concentração 0,001% e quando em temperaturas de 7°C e 4°C.

De acordo com pesquisa realizada por Moraes, 2019 ao avaliar o desempenho do teste rápido Formfix2.0® com a metodologia convencional, na detecção de diferentes concentrações de formol adicionado ao leite refrigerado e armazenado por até 96 horas, não foram observadas alterações de cor em nenhum dos tratamentos na concentração de 0,001% indicando resultado falso negativo, portanto, os resultados falsos negativos observados nessa concentração já eram esperados.

Entretanto, resultados negativos nas concentrações de formol, de 0,005% e 0,01% e em temperaturas iguais ou menores que 20°C, sugerem interferência da temperatura no desenvolvimento da reação colorimétrica.

Por outro lado, na concentração de 0,001% e nas temperaturas de 25°C e 30°C, obteve-se resultados positivos na detecção de formol no leite com teor integral de gordura, diferentemente do observado em leite desnatado. Pode ser que a gordura, aliada a temperaturas mais altas, que determinam o estado físico da gordura mais liquefeito, tenha agido de alguma maneira para facilitar a ocorrência da reação colorimétrica.

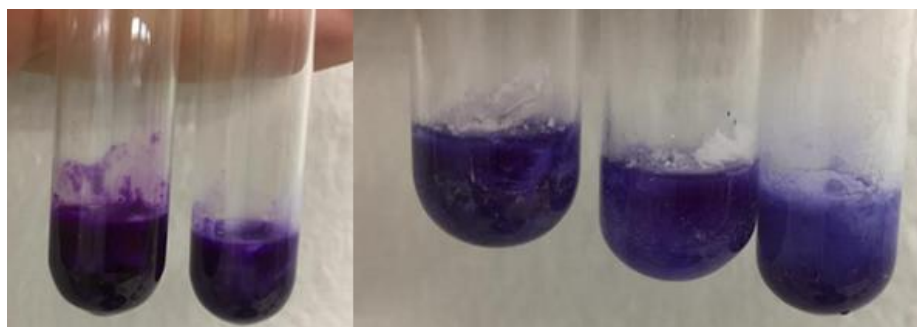
Em adição, observou-se que o reagente Formfix2.0® produz precipitação da proteína formando grumos devido à presença de ácido na formulação do produto; entretanto, essa formação de grumos não se confunde com a detecção de formol pelo reagente, que é indicada pela alteração de cor,

porém pode causar suspeição de algum tipo de alteração no leite no momento do recebimento comercial, quando utilizado o reagente como método de triagem (Figura 1). O reagente FormolFree® não produz precipitação no leite.



**Figura 1:** Comparação de resultado da adição do reagente Formfix2.0® em leite sem formol, à direita (precipitação) com leite sem adição do reagente.

Observou-se também que a rapidez do aparecimento da coloração violácea do reagente Formfix2.0®, assim como sua maior intensidade acontecia nas amostras de leite contendo as maiores concentrações de formol e em temperaturas mais elevadas (figura 2).



**Figura 2:** Demonstração de intensidade de tonalidade envolvendo diferentes concentrações (da esquerda para direita: 0,5%, 0,1%, 0,05%, 0,03% e 0,01% em 25°C).

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que a temperatura do leite interfere na detecção de formol adicionado ao leite, pelos dois testes rápidos avaliados.

A interferência da gordura do leite não ficou totalmente esclarecida, sendo necessários mais estudos.

Ambos os testes necessitam de aprimoramento em suas formulações e indicações, porém sua utilização como testes de triagem não deve ser descartada.

Essa pesquisa também confirmou a metodologia convencional como mais precisa e adequada quando houver necessidade da confirmação de resultados positivos ou suspeitos.

## 6 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; 73(3): 244-51. 2014.

AMORIM, A.L.B.C. **Avaliação da Presença de Substâncias Químicas em Leites Cru e Beneficiado Produzidos e Comercializados no Distrito Federal e Entorno**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília, 2017, 49p. Dissertação de Mestrado.

BONEFÁCIO, S. M. B. A. **Resíduos de Formol em Leite Cru: Interferência de Outras Substâncias Químicas na Detecção e Efeitos sobre a Microbiota**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.

BRAGA, S. Foi criada a operação Leite Compensado, que apura adulteração do leite no RS. 2013. Disponível em: <https://canalrural.uol.com.br/programas/informacao/jornal-da-pecuaria/foi-criada-operacao-leite-compensado-que-apura-adulteracao-leite-16251/>. Acesso em 21 de Outubro de 2019.

BRASIL. Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite UAT (UHT). **Diário Oficial da União**, Brasília, 08 Set. 1997. Seção 1.p. 19700.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de Dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 de dez. de 2006. Seção 1, p. 8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 9.013, de 29 de Março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-RIISPOA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, Distrito Federal, 29 mar. 2017. Seção 1, p. 3



BRASIL a. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de Novembro de 2018. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 de nov. de 2018. Seção 1, p. 9.

BRASIL b. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 77, de 26 de Novembro de 2018. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 de nov. de 2018. Seção 1, p. 9.

BRASIL c. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal**. Brasília: MAPA, 2018.

CARDOSO, G. S. P. **Avaliação Físico-química Microbiológica do Leite Cru Refrigerado e Soro dos Queijos Minas Frescal e Mussarela Estocados Sob Diferentes Temperaturas**. 2014. Tese apresentada para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás.

EMATER. Entidade Autárquica de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Rondônia. In: Leite em Alta, Economia Aquecida. Disponível em: <http://www.emater.ro.gov.br/ematerro/2018/02/08/leite-em-alta-economia-aquecida/>. Acesso em 9 de Outubro de 2019.

FURTADO, M. A. M. Palestra: Fraudes em leite de consumo. In: I SIMPÓSIO DE QUALIDADE DO LEITE E DERIVADOS, UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, 16 a 19 de Agosto de 2010. Disponível em: <http://r1.ufrrj.br/simleite/Marco%20Furtado.pdf>. Acesso em 09 de outubro de 2019.

GONÇALVES, R. Dupla é presa suspeita de furtar e adulterar leite, em Morrinhos. 2019. Disponível em: <https://g1.globo.com/go/goias/noticia/2019/07/17/dupla-e-presa-suspeita-de-furtar-e-adulterar-leite-em-morrinhos.ghtml>. Acesso em 09 de Outubro de 2019.

MARTINS, G. B. C., SUCUPIRA, R. R., SUAREZ, P. A. Z. **Papel Indicador Colorimétrico para Detecção de Formol em Produtos Lácteos e Produtos de Higiene Pessoal**. Química Nova, Vol. 40, No. 8, 946-951, 2017. Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

MAREZE, J., MARIOTO, L. R. M., GONZAGA, N., DANIEL, G. C., TAMANINI, R., BELOTI, V. **Detecção de adulterações do leite pasteurizado por meio de provas oficiais.** Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 36, n. 1, supl, p. 283-290. 2015.

MILKPOINT. IBGE: produção de leite cresce 1,6% em 2018 e produtividade por vaca aumenta quase 5%. 2019. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/giro-noticias/ibge-producao-de-leite-cresce-16-em-2018-e-produtividade-por-vaca-aumenta-quase-5-216109/>. Acesso em 15 de Novembro de 2019.

MORAIS, D. L. **Efeito do período de armazenamento do leite na detecção de formol adicionado e no desenvolvimento da microbiota láctica.** 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.

OLIVEIRA, M. C. MPF/MG: operação ouro branco desarticula organizações criminosas que adulteravam leite. 2007. Disponível em: <http://www.mpf.mp.br/mg/sala-de-imprensa/noticias-mg/operacao-ouro-branco-desarticula-organizacoes-criminosas-que-adulteravam-leite-nos-municipios-mineiros-de-uberaba-e-passos>. Acesso em 21 de Outubro de 2019.

PINHEIRO, P. S. **Estudo Sobre a Influência do Tempo de Armazenamento e da Temperatura na Detecção de Formol Adicionado ao Leite.** 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.

SCHERER, T. **Verificação Quantitativa dos Métodos Qualitativos Oficiais para Detecção de Fraude em Leite.** 2015. Trabalho de Conclusão de (Graduação em Química Industrial) – Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, Rio Grande do Sul.

SILVA, L. C. C. **Capacidade de detecção de adulterações e Suficiência das Provas Oficiais para Assegurar a Qualidade do Leite Pasteurizado.** 2013. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (nível Doutorado) da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná.

SOUSA, R. E. **Avaliação de um Teste Rápido para a Detecção de Formol no Leite Cru.** 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.