

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ACIDEZ TITULÁVEL, pH E TEOR DE PROTEÍNAS TOTAIS NO LEITE DE BÚFALA¹

RUBEN PABLO SCHOCKEN-ITURRINO² E ANTONIO NADER FILHO³

ABSTRACT.- Schocken-Iturrino R.P. & Nader Filho A. 1984. [Comparative study on the titratable acidity, pH and total protein content in buffalo milk.] Estudo comparativo entre acidez titulável, pH e teor de proteínas totais no leite de búfala. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 5(1):11-13. Depto Microbiol., Fac. Ciênc. Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, SP 14870, Brazil.

Thirty-two samples of buffalo milk from a group of 90 females from Pitangueiras County, State of São Paulo, were analyzed for pH, titratable acidity and total protein content. The results obtained showed positive correlation between total protein content and titratable acidity $r = 0.76$ ($P < 0.01$) but no relation to the real acidity or pH $r = -0.34$ ($P > 0.05$). On the other hand, of the 18 (56.25%) samples that had values of titratable acidity of over 18°D, 17 (53.13%) had normal values of pH from 6.45 to 6.80, permitting misinterpretation, if the titratable acidity of buffalo milk is evaluated using the parameters fixed for cow's milk. It was also seen that the data obtained contradict the alternative limits proposed for the modification of the acidity control system for this type of milk. For this reason, it is believed that the acidity determination must be based on the real acidity or pH, because parameters for titratable acidity based on the physico-chemical composition of buffalo milk have not been established.

INDEX TERMS: buffalo milk, titratable acidity, pH, total protein content, regulatory patterns.

SINOPSE.- Foram submetidas a determinação de acidez titulável, pH e teor de proteínas totais, 32 amostras de leite procedentes de 90 búfalas de uma propriedade situada no município de Pitangueiras, SP. Os resultados evidenciaram uma correlação positiva ($r = 0,76$; $P < 0,01$) entre o teor de proteínas totais e a acidez titulável sem influência evidente ($r = 0,34$; $P > 0,05$) na acidez real ou pH. Por outro lado, das 18 (56,25%) amostras que apresentaram valores de acidez titulável superior a 18°D, 17 (53,13%) apresentaram valores de pH entre 6,45 e 6,80, evidenciando, portanto, a ocorrência de equívocos na interpretação, caso a acidez titulável do leite de búfala seja analisada com base nos padrões fixados para o leite de vaca. Verificou-se, ainda, que os dados obtidos contrariaram os limites alternativos propostos para a modificação do sistema de controle de acidez deste tipo de leite. Assim sendo, acredita-se que a análise de acidez deva ser efetuada com base na acidez real ou pH, enquanto não forem estabelecidos padrões de acidez titulável coerentes com a composição físico-química do leite de búfala.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: leite de búfala, acidez titulável, pH, teor de proteínas totais, padrões regulamentares.

INTRODUÇÃO

O crescente interesse pela criação de búfalo (*Bubalus bubalis*) nestes últimos anos tem determinado maior utilização do leite

das fêmeas dessa espécie, sendo esta uma opção bastante interessante para os criadores, principalmente se considerados o elevado teor de sólidos totais, especialmente a gordura, cujo aproveitamento é plenamente viável tanto para o consumo direto quanto para a produção de derivados (Fernando et al. 1979, Furtado 1980).

Dentro dessa nova conjuntura, a Secretaria da Inspeção dos Produtos de Origem Animal (SIPA) estabelece, através da Portaria nº 286, que o leite de búfala pode ser misturado ao leite de vaca a ser distribuído ao consumo, em proporção de até 30%. Todavia, até a presente data, não existe uma legislação específica quanto aos critérios de seleção desse leite. Assim sendo, é de se esperar que o leite de búfala seja analisado e interpretado com base nos parâmetros estabelecidos para o leite de vaca (Furtado 1980).

Furtado (1980), analisando 13 amostras de leite de búfala da Zona da Mata de Minas Gerais, verificou a interferência das proteínas, especialmente a caseína, sobre a titulação acidimétrica, de modo a levar a interpretação errônea na plataforma de recepção, caso esse produto fosse analisado com base nos parâmetros estabelecidos para o leite de vaca. Diante desse fato, o referido autor sugeriu algumas opções para a modificação do sistema de controle na recepção do leite de búfala, ou seja, seriam eliminados apenas aqueles que apresentassem pH inferior a 6,45 ou acidez titulável igual ou superior a 23°D.

Nader Filho et al. (1984) também verificaram a interferência das proteínas do leite de búfala sobre a titulação acidimétrica, em 20 amostras procedentes de 62 fêmeas da região de São José do Rio Preto, SP. Todavia, os achados desses autores, aparentemente, contrariam os limites das opções sugeridas por Furtado (1980) para a modificação do sistema de controle des-

¹ Aceito para publicação em 3 de setembro de 1984.

² Depto Microbiologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, "Campus" de Jaboticabal (FCAVJ, UNESP), Jaboticabal, São Paulo 14870.

³ Depto Higiene Veterinária e Saúde Pública, FCAVJ, UNESP.

se tipo de leite, uma vez que 6 (30,0%) amostras apresentaram pH inferior a 6,45 e acidez titulável inferior a 23^oD, bem como 2 (10,0%) amostras apresentaram pH superior a 6,45 e acidez titulável superior a 23^oD.

Diante do exposto, verifica-se a necessidade de maiores informações sobre a interpretação das análises de rotina efetuadas pelo Serviço de Inspeção a nível de estabelecimentos de leite e derivados. Assim sendo, realizou-se o presente trabalho, com os objetivos de verificar a influência do teor de proteínas totais na acidez titulável do leite de búfala, verificar a possibilidade da ocorrência de equívoco na interpretação da acidez titulométrica e analisar as alternativas propostas para a modificação do sistema de controle desse tipo de leite.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de agosto a novembro de 1983, foram colhidas 32 amostras de leite procedentes de 90 búfalas das raças Murrah e Jafarabadi, pertencentes a uma propriedade rural situada no município de Pitangueiras, SP.

Na referida propriedade, a ordenha era efetuada manualmente, uma vez ao dia, sendo a colheita de amostras realizada semanalmente, logo após o término do processo de obtenção do leite. Depois de minuciosa homogeneização do leite contido nos latões, colhiam-se 500 ml de cada, de modo que cada amostra (1000 ml) representasse a mistura do produto de dois latões.

As amostras eram acondicionadas em frascos esterilizados, sendo mantidas sob refrigeração e transportadas para os laboratórios da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, UNESP, onde se efetuava a determinação da acidez titulável, pH e teor de proteínas totais.

A determinação da acidez titulável foi efetuada através do método Dornic. Assim, em um erlenmeyer juntavam-se 3 a 5 gotas de fenolftaleína (2%) e 10 ml de leite. Paralelamente, em uma bureta graduada, colocavam-se 25 ml de solução de hidróxido de sódio (N/9). Para a titulação, gotejava-se soda Dornic (NaOH/9) ao leite contendo fenolftaleína até o aparecimento de ligeira tonalidade rósea. A quantidade de soda Dornic gasta durante o processo, multiplicada por 10, correspondia ao grau de acidez da amostra analisada (Ministério da Agricultura 1981).

A determinação do pH foi efetuada em potenciômetro tipo pH-Meter TOA modelo HM-7A, enquanto que a determinação do teor de proteínas totais foi realizada através da técnica proposta por Berge (1963), representada por uma equação de regressão que permite calcular o teor de proteínas totais do leite de búfala a partir do teor de gordura ($P = 0,5 \times G + 1,5$) onde P = percentagem de proteína a ser determinada, G = percentagem de gordura conhecida e 1,5 = fator fixo.

Por outro lado, a determinação do teor de gordura foi realizada através do butirômetro de Gerber, ao qual se juntavam 10 ml de ácido sulfúrico (D=1,820), 10,75 ml de leite e 1 ml de álcool amílico (D=0,815). Após a homogeneização, esta mistura era submetida a centrifugação (800/1200 rpm) durante 3 a 5 minutos. O percentual de gordura da amostra examinada correspondia ao percentual da camada gordurosa observado na escala do aparelho (Pruthi & Bhalariao 1973).

Os resultados foram submetidos à análise de regressão linear de teor de proteínas totais contra acidez titulável e de teor de proteínas totais contra acidez real ou pH, bem como à determinação dos coeficientes de correlação entre essas características (Snedecor 1966).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de regressão linear e a determinação dos coeficientes de correlação efetuadas nos dados constantes no Quadro 1 evidenciaram a existência de uma correlação positiva ($r = 0,76$; $P < 0,01$) entre o teor de proteínas totais e a acidez titulável,

Quadro 1. Distribuição dos valores médios de acidez titulável, pH, teor de proteínas totais e coeficientes de correlação da acidez pH x teor de proteínas

Acidez titulável (°Dornic)	pH	Teor de proteínas totais	Amostras		
			Nº	%(a)	%(b)
15	6,86	4,55	3	9,37	9,37
16	6,63	4,50	2	6,25	15,62
17	6,72	4,62	3	9,37	24,99
18	6,55	4,88	6	18,75	43,74
19	6,67	4,88	5	15,62	59,36
20	6,63	4,91	4	12,50	71,86
21	6,63	4,87	1	3,13	74,99
22	6,65	4,89	3	9,38	84,37
23	6,63	4,97	3	9,38	93,75
24	6,59	4,93	1	3,13	96,88
25	6,00	4,85	1	3,13	100,00
Total	6,63	4,81	32	100,00	

(a) Em relação ao número de amostras analisadas.

(b) Em relação ao número de amostras acumuladas.

$$y = 3.9911 + 0,0428x \therefore r = 0,76^{**}$$

$$y = 7.0929 - 0,3428x \therefore r = 0,34^{NS}$$

isto é, à medida que se verificou um aumento gradual do teor de proteínas totais no leite de búfala, houve um aumento significativo da acidez titulável, com influência não significativa ($r = 0,34$; $P > 0,05$) na acidez real ou pH.

Furtado (1980) e Nader Filho et al. (1984) encontraram resultados semelhantes em amostras de leite de búfala procedentes da Zona da Mata em Minas Gerais e São José do Rio Preto, SP, respectivamente. Segundo Veisseyre (1975), as proteínas podem exercer efeito tamponante sobre a acidez titulável, especialmente a caseína, que apresenta em sua constituição dezenas de aminoácidos com características anfotéricas. Assim, em presença de uma base, esses aminoácidos passam a reagir como ácido, dando próton e, quando se titula a acidez do leite de búfala, mede-se a chamada acidez potencial, que pode levar à interpretação irregular da acidimetria.

Segundo Alais (1975), a acidez de titulação do leite de búfala se dividiria em duas classes, representadas pela acidez natural e pela acidez desenvolvida, cuja soma representaria a acidez global titulável. A acidez desenvolvida seria fruto da degradação microbiana da lactose com formação de ácido láctico e outros ácidos orgânicos, ao passo que a acidez natural seria representada em 2/5 pela caseína e o restante por substâncias minerais, ácidos orgânicos e fosfatos.

De acordo com os dados inseridos no Quadro 1, caso esse produto fosse analisado com base nos parâmetros estabelecidos para o leite de vaca, as 18 (56,25%) amostras que apresentaram acidez titulável superior a 18^oD deveriam ser rejeitadas a nível de plataforma de recepção. Todavia, verifica-se que, dessas amostras, apenas 1 (3,13%) apresentou acidez real ou pH fora da normalidade.

Diante da provável ocorrência de interpretações errôneas da análise de acidez do leite de búfala, devido ao caráter anfótero

da caseína, Furtado (1980) sugeriu que fossem rejeitadas apenas as amostras que apresentassem pH inferior a 6,45 ou acidez titulável igual ou superior a 23°D. Entretanto, os dados inseridos no Quadro 1 evidenciam a ocorrência de 4 (12,50%) amostras que apresentaram pH superior a 6,45 e acidez titulável igual ou superior a 23°D.

Nader Filho et al. (1984), analisando 20 amostras de leite de conjunto procedentes de 62 búfalas da região de São José do Rio Preto, SP, verificaram a ocorrência de 2 (109,00%) amostras com pH inferior a 6,45 e acidez titulável inferior a 23°D.

Os achados deste estudo assemelham-se aos de Nader Filho et al. (1984), os quais aparentemente contrariam os limites das opções propostas por Furtado (1980), para a resolução do problema da interferência do teor de proteínas totais sobre a acidez titulável, no que se refere às modificações na legislação competente.

Embora tenha sido verificada a influência do teor de proteínas totais sobre a acidez titulável do leite de búfala, de modo a acarretar equívocos na interpretação, caso esse produto seja analisado com base nos parâmetros fixados para o leite de vaca, os dados obtidos parecem ser insuficientes para a determinação de parâmetros alternativos no sistema de controle de recepção do leite de búfala.

Tendo em vista a possibilidade da ocorrência de equívocos de interpretação de acidez titulável (Dornic) do leite de búfala a nível de plataforma de recepção dos estabelecimentos de leite e derivados, caso esse produto seja analisado com base nos parâmetros estabelecidos para o leite de vaca e, considerando a discordância verificada entre os poucos trabalhos publicados, acredita-se que a seleção desse produto deve ser efetuada com base na acidez real ou pH, enquanto não foram estabeleci-

dos padrões coerentes com a composição físico-química desse tipo de leite.

Agradecimentos. - Agradecemos ao Prof. Dr. Euclides Braga Malheiros, do Departamento de Ciências Exatas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, UNESP, pela colaboração prestada na execução da análise estatística deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Alais C.H. 1975. Science du lait; principe des techniques laitières. 3^{ème} ed. Publicité, Paris. 807 p.
- Berge A. 1963. Acta Agri. Scand. 13:220. (Citado por Ganguli 1974)
- Fernandes A.D., Martins J.F.P., Baldini V.L. 1979. Desenvolvimento de parâmetros tecnológicos para o processamento de requeijão cremoso com leite de búfala (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. Anais do Encontro sobre Bubalinos, Soc.Bras.Zootecnia, Curitiba, PR. 234 p.
- Furtado M.M. 1980. O teor de proteínas no leite de búfala e sua acidez titulável. Revta Inst. Lacticínios Cândido Tostes 35(212): 27-30.
- Ganguli N.C. 1974. Physico-chemical make-up of buffalo milk in the standardization of technique of handling, processing and manufacture of products. XIX Int. Dairy Congr., Delhi, India, p. 358-364.
- Ministério da Agricultura 1981. Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Métodos físico-químicos. Brasília.
- Nader Filho, A., Schocken-Iturrino R.P., Rossi Júnior O.D., Mano Filho A.C. 1984. Influência do teor de proteínas totais na acidez titulável e pH do leite de búfala. Revta Inst. Lacticínios Cândido Tostes 39 (231):25-28.
- Pruthi T. & Bhalerao V.R. 1973. Milchwissenschaft 28: 210. (Citado por Ganguli 1974)
- Snedecor G.W. 1966. Métodos estatísticos aplicados a la investigation agricola e biologica. 2^a ed. Continental, México. 626 p.
- Veisseyre R. 1975. Technologic du lait. 2^{ème} ed. La Maison Rustique, Paris. 565 p.