



Rede Brasileira de
Bancos de Leite
Humano

PNQBLH – Programa
Nacional de Qualidade
em Bancos de Leite
Humano

Sede:
FIOCRUZ/IFF-BLH
Av. Rui Barbosa, 716 –
Flamengo
Rio de Janeiro CEP:
RJ 20.550-020

Tel/fax: (021) 2553-6331
www.redeblh.fiocruz.br

NOV 2011

BLH-IFF/NT- 29.11

Leite Humano Ordenhado: Determinação da Acidez Titulável – Método Dornic

Origem

Centro de Referência Nacional para Bancos de Leite
Humano – Instituto Fernandes Figueira / Fundação Oswaldo
Cruz / Ministério da Saúde

Autores

João Aprígio Guerra de Almeida; Franz Reis Novak e
Vander Guimarães

Palavras-Chave: Acidez Titulável. Dornic. Leite Humano.
Qualidade.

7 páginas

SUMÁRIO

1. Objetivo
 2. Documentos Complementares
 3. Definições
 4. Fundamentos
 5. Reagentes
 6. Ensaio
 7. Resultados
- ANEXO – Formulário para Registro Diário de Resultados

1. Objetivo

Esta Norma estabelece os procedimentos e critérios para determinação da acidez titulável pelo método Dornic, que devem integrar o controle de qualidade de rotina dos Bancos de Leite Humano no que diz respeito ao controle físico-químico.

2. Documentos Complementares

Na elaboração desta Norma foram consultados:

MB 74 a MB 91 e MB 110: 1972. Óleos e Gorduras Vegetais – Determinação da Acidez.

RDC 171. Normas para Implantação e Funcionamento de Bancos de Leite Humano. DOU – 04/09/2006.

Programa Nacional de Qualidade em Bancos de Leite Humano – Manual do Participante. Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Fernandes Figueira – Rio de Janeiro. 2002.

3. Definições

Para os efeitos desta Norma, aplicam-se as seguintes definições:

3.1. Acidímetro: equipamento calibrado em frações de 0,01mL, utilizado para a titulação do leite humano ordenhado.

3.2. Grau Dornic (°D): é a unidade de valor do índice de acidez, quando a solução de hidróxido de sódio utilizada tem normalidade igual a N/9.

3.3. Índice de Acidez: é o número de mililitros de hidróxido de sódio necessários para neutralizar o ácido láctico presente em 1mL de amostra.

3.4. Microbiota Primária: aquela decorrente da contaminação natural do interior das mamas.

3.5. Microbiota Secundária: aquela que se origina a partir de agentes externos, tais como utensílios, equipamentos e da manipulação inadequada.

3.6. Solução Indicadora: solução hidroalcoólica de fenolftaleína 1% p/v neutralizada, utilizada para indicar o ponto final da determinação da acidez.

4. Fundamentos

4.5. Quadro Teórico

O referencial teórico que confere sustentação técnico-científica aos fundamentos que compõem esta Norma foi extraído das seguintes fontes:

ALMEIDA, J. A. G., 1985. Leite Humano Ordenhado. In: *Banco de Leite Humano*. Anais do Congresso Pan-Americano de Aleitamento Materno. Porto Alegre.

ALMEIDA, J. A. G., 1986. *Qualidade do Leite Humano Coletado e Processado em Bancos de Leite*. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

ALMEIDA, J. A. G., 1992. *Fatores de Defesa do Leite Humano: Ecologia microbiana* (filmevídeo). 1 cassete VHS, 34 minutos, color., sonoro. Rio de Janeiro: Núcleo de Vídeo – CICT/Fundação Oswaldo Cruz.

ALMEIDA, J. A. G., 1992. *O Leite Humano: aspectos relativos à composição* (filme-vídeo). 1 cassete VHS, 34 minutos, color., sonoro. Rio de Janeiro: Núcleo de Vídeo – CICT/Fundação Oswaldo Cruz.

ALMEIDA, J. A. G. & NOVAK, F. R., 1995. O leite humano: qualidade e controle. In: *Fisiologia e Patologia da Lactação* (Santos Jr., org.). Natal: Ed. Sociedade Brasileira de Mastologia.

ALMEIDA, J. A. G.; NOVAK, F. R. & SANDOVAL, M. H., 1998. Recomendaciones tecnicas para los bancos de leche humana II – Control de calidad. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 61(1):12-15.

ALMEIDA, J. A. G., 1999. *Amamentação: Um Híbrido Natureza-Cultura*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.

4.6. Princípio

Em decorrência de sua própria composição, o leite humano apresenta uma acidez original. As micelas de caseína, os sais minerais (dentre os quais se destacam os fosfatos e citratos), bem como as proteínas do soro do leite, são os principais responsáveis por essa propriedade química.

Em termos didáticos, a acidez do leite humano pode ser classificada como original ou desenvolvida. A original resulta da presença de seus constituintes, e a desenvolvida decorre do ácido láctico, produzido a partir do crescimento bacteriano. As bactérias, integrantes tanto da microbiota primária quanto da secundária, fermentam a lactose do leite humano, produzindo ácido láctico.

Cada molécula de lactose metabolizada produz 4 moléculas de ácido láctico, o que, além de aumentar a acidez do produto, concorre também para o aumento da osmolaridade e para a diminuição da biodisponibilidade do cálcio e fósforo presentes.

Essa redução resulta do ataque químico do ácido láctico às micelas de caseína, levando à precipitação e conseqüente insolubilização do cálcio, que, apesar de presente no leite e ser passível de detecção quantitativa através das técnicas laboratoriais usuais, tem a sua biodisponibilidade reduzida.

Quanto maior a quantidade de ácido láctico produzido, menor a biodisponibilidade de cálcio e fósforo no leite humano ordenhado. De maneira prática, a distinção entre acidez original e desenvolvida não se faz importante no momento da mensuração, interessando apenas o conhecimento da acidez total, que reúne as duas.

Dependendo da técnica utilizada para determinação da acidez, esta pode ser denominada Atual ou Titulável.

A acidez Atual é determinada com auxílio de potenciômetros ou medidores de pH, bem como através de indicadores de potencial hidrogeniônico. Os valores são sempre expressos em pH.

Em condições normais, o leite humano tende a apresentar pH ligeiramente ácido, próximo ao da neutralidade, situando-se entre 6,5 e 6,9. Em virtude do sistema tampão, decorrente da composição do leite humano, para que ocorram mudanças nos valores do pH na ordem de 0,1 unidade são necessárias elevações consideráveis na acidez desenvolvida. Esse fato desqualifica o pH como indicador eficaz para detectar a acidez desenvolvida do leite humano, face à sua baixa sensibilidade.

A acidez Titulável é determinada sempre com o auxílio de uma solução padrão que contenha um titulante alcalino, mais especificamente uma base, que na maior parte das vezes é o hidróxido de sódio – NaOH.

A técnica se baseia em uma reação estequiométrica entre o titulante alcalino padrão e os constituintes com caráter ácido presentes no leite humano, até que ocorra uma completa neutralização.

O ponto final da reação é determinado com o auxílio de um pHmetro ou revelado através de soluções indicadoras, preparadas com substâncias que possuem grupamentos cromóforos em sua composição. Por essa razão, há mudança de cor de acordo com a mudança de pH.

Dependendo da solução básica utilizada como titulante no processo de determinação da acidez, esta recebe nomes diferentes. Quando a solução titulante é o hidróxido de sódio N/9, também conhecido como Solução Dornic, cada 0,01mL

gasto para neutralizar 1mL de leite humano ordenhado corresponde a 1 grau Dornic (1^oD).

O leite humano recém-ordenhado, caso titulado imediatamente após a ordenha, apresenta-se praticamente livre de ácido láctico, e sua acidez total pode ser considerada original, com valores oscilando entre 1,0 e 4,0^oD.

À medida que sua microbiota encontra condições favoráveis para o crescimento, ocorre a produção de ácido láctico e a conseqüente elevação da acidez. Acidez maior que 8,0^oD desqualifica o produto para o consumo. Mesmo apresentando valores inferiores a esse limite, a biodisponibilidade do cálcio e a osmolaridade variam de forma inversamente proporcional ao índice de acidez.

5. Reagentes

Os seguintes reagentes serão utilizados:

Solução padrão de hidróxido de sódio N/9.

Solução indicadora de fenolftaleína hidroalcoólica a 1% p/v em álcool de 95^oGL neutralizada.

6. Ensaio

6.5. Equipamentos e Utensílios ([vídeo](#))

6.5.1. Pipetador automático para análise quantitativa

6.5.2. Pipetas volumétricas de 1mL

6.5.3. Estante para suporte, revestida em PVC, para 24 ou 72 tubos

6.5.4. Microbureta graduada ao centésimo ou acidímetro com escala de 0,01mL

6.5.5. Caixas isotérmicas revestidas em PVC

6.5.6. Agitador tipo vórtex

6.5.7. Frasco conta-gotas

6.5.8. Gelo reciclável

6.5.9. Tubos de ensaio (10 x 100mm)

6.6. Determinação da Acidez

6.6.1. Após homogeneização manual, pipetar 4mL de leite a ser analisado e transferir esse volume para um tubo de ensaio de 10 x 100mm. Proceder da mesma forma para cada novo frasco de leite descongelado.

6.6.2. Pipetar quantitativamente 3 alíquotas de 1mL da amostra coletada no item 6.2.1 para o interior de tubos de ensaio com capacidade para 5mL. Antes de pipetar cada alíquota, homogeneizar cuidadosamente o tubo que contém a amostra de leite humano ordenhado a ser analisada. ([vídeo](#))

6.6.3. Adicionar à alíquota de 1mL de leite humano a ser titulada 1 gota da solução indicadora de fenolftaleína. ([vídeo](#))

6.6.4. Proceder à titulação da alíquota de leite humano ordenhado com NaOH N/9, gota-agota. Durante toda a titulação, o tubo de ensaio contendo o leite deve ser permanentemente agitado, com auxílio de movimentos leves, para evitar a incorporação de ar ao produto. ([vídeo](#))

6.6.5. Interromper o procedimento quando houver a viragem do indicador, que passa a assumir coloração róseo-clara, que se firma. ([vídeo](#))

6.6.6. Proceder à leitura neste momento.

7 Resultados

7.5. Cada 0,01mL de hidróxido de sódio N/9 gasto corresponde a 1,0oD. Se em um ensaio forem gastos 0,04mL de solução, aquela amostra possui acidez titulável igual a 4,0oD. ([vídeo](#))

7.6. O valor final da acidez Dornic corresponde à média aritmética dos três valores obtidos na testagem individual de cada amostra.

7.6.1. Quando o titulante não apresentar concentração exata N/9, levar em consideração o valor do fator de correção (multiplicando o valor obtido em 7.6 pelo mesmo).

7.7. Considera-se normal para a acidez do leite humano qualquer valor situado na faixa de 1,0 a 8,0oD, inclusive.

