

CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DA VITAMINA C E ÍNDICE DE ESCURECIMENTO DE IOGURTES ADICIONADOS COM VITAMINA C

KINETICS OF DEGRADATION OF VITAMIN C AND BROWNING INDEX OF YOGURTS ADDED WITH VITAMIN C

Carolina Neves Cunha¹, Caroline Barroso dos Anjos², Rodrigo Stephani², Alan Wolfschoon-Pombo³, Juliana de Carvalho da Costa¹ e Ítalo Tuler Perrone¹

¹Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG 36036-900, Brasil.

²Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG 36036-900, Brasil.

³INOVALEITE, Grupo de Pesquisa Multicêntrico, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG 36036-900, Brasil.

Resumo

O presente estudo teve como objetivo quantificar a degradação da vitamina C adicionada em iogurtes. Para isto, o iogurte foi produzido a partir do leite desnatado reconstituído adicionado de vitamina C e tratado termicamente a 90 °C/5 min e 90 °C/163 min. A vitamina C foi monitorada durante 21 dias de armazenamento a 7 ± 2 °C, e um modelo cinético de reação de primeira ordem descreveu melhor a sua diminuição nos iogurtes de ambos os tratamentos térmicos investigados. Marcadores da reação de Maillard (MR) e alterações de cor também foram avaliados durante o período de armazenamento. Foi observada uma perda de 73,9% a 78,7% de vitamina C e uma intensificação da reação de escurecimento no final do período de armazenamento. Os dados colorimétricos e cromatográficos sugerem a participação da vitamina C no processo de reação de escurecimento.

Palavras-chave Cinética; Ácido ascórbico; Reação de Maillard.

Introdução

O ácido L-ascórbico (vitamina C) é um composto obtido principalmente de frutas cítricas e vegetais folhosos, como a acerola e o camu-camu, duas frutas típicas brasileiras que contêm aproximadamente 1593 mg e 6690 mg por 100 g da fruta, respectivamente (Garcia et al., 2020). As vacas leiteiras também podem biossintetizar a vitamina C no seu fígado através da via do ácido glicurônico, utilizando D-glucose ou D-galactose. A concentração desta vitamina pode variar entre 0,28 mg e cerca de 0,62 mg em porções de 100 g (Ranjan et al., 2012).

A vitamina C é altamente instável e sua degradação pode causar perda de valor nutricional e alterações de cor nos alimentos. Estruturalmente, pode atuar como um carboidrato redutor e na presença de aminoácidos, proteínas e peptídeos participar de reações não enzimáticas de escurecimento, como na reação de Maillard (MR) (Smuda & Glomb, 2013; Yang et al., 2021). O hidroximetilfurfural (HMF) é um dos produtos de decomposição da vitamina C e sugere-se que seja um precursor dos pigmentos castanhos formados. Em sucos, a oxidação da vitamina C ocorre principalmente durante o processamento e sob degradação anaeróbica durante o armazenamento (da S. Lima et al., 2009). Em condições aeróbicas, a vitamina C é transformada em ácido L-dehidroascórbico, que se converte em ácido 2,3-dicetogulônico e finalmente em HMF. Esta oxidação pode ser considerada a causa da diminuição do teor de vitamina C nos alimentos (Sucupira et al., 2012).

No presente estudo, a cinética da vitamina C adicionada ao leite de iogurte tratado termicamente foi investigada com base na quantificação da vitamina C e na determinação simultânea de quatro precursores de Maillard. Assim como seu índice de escurecimento, durante 21 dias de armazenamento a 7 ± 2 °C.

Material e Métodos

Quatro formulações de iogurtes foram preparadas a partir da reconstituição de leite em pó desnatado de baixo tratamento térmico da marca Land O'Lakes® e adicionado de vitamina C marca Synth®, sendo elas: T1= 99,988% m/m leite e 0,012% vitamina C, T2= 100% m/m leite; T3= 99,988% m/m leite e 0,012% vitamina C e T4= 100% m/m leite. Estas foram submetidas a diferentes tratamentos térmicos, T1 e T2 foram tratadas a 90 °C por 5 minutos, condições convencionais na etapa de pasteurização do leite para produção de iogurtes e T3 e T4 receberam o tratamento térmico modificado, 90 °C por 163 minutos. Esta alteração foi realizada com a intenção de iniciar reação de Maillard, porém sem provocar intensa variação na cor final do produto. Estas temperaturas foram determinadas através da análise do gráfico (temperatura x tempo) para leite que apresenta as variações de cor, descrito por Kessler (2002). A temperatura de 90 °C por 2h e 43min se encontra em uma região limítrofe com relação à alteração de cor no leite conforme o tratamento térmico aplicado, a temperatura 90 °C por 5 minutos se encontra em uma região na qual não foi observado alteração de cor no leite (KESSLER, 2002). Os iogurtes foram produzidos através da adição de cultura iniciadora contendo *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (YoFlex® Mild 1.0) na concentração de 0,2 U. As amostras foram analisadas antes do tratamento térmico (AT), depois do tratamento térmico (DT) após 1, 7, 14, 21 dias de produção, a fim de avaliar as características de pH, acidez titulável, teor de vitamina C, HMF (5-hidroximetilfurfural), F (2-furaldeído), FMC (2-furil-metilcetona) e MF (5-metil-2-furaldeído). O experimento consistiu na produção de quatro lotes formulações para iogurtes.

Para quantificar a vitamina C, foi empregada a metodologia analítica delineada pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 2012.22. O método foi validado com base nos parâmetros: seletividade, linearidade, precisão (tanto repetibilidade quanto precisão intermediária), exatidão, limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) (Brasil, 2017).

Foram analisadas as alterações de concentração de vitamina C ($-\Delta[\text{vitamina C}]/\Delta t$) nas amostras de iogurte de cada tratamento térmico após 1, 5, 7, 10, 14, 18 e 21 dias de armazenamento a $7 \pm 2^\circ\text{C}$. Substituindo Δ por um diferencial e resolvendo a equação, obtivemos a forma de ordem zero: $C - C_0 = -kt$ (em que C_0 representa a concentração de vitamina C no tempo 0) ou a forma logarítmica integrada de primeira ordem: $\ln(C - C_0) = -kt$. A constante k mede a mudança na concentração de reagentes ou produtos ao longo do tempo; indica a "velocidade" com que ocorre a diminuição de reagentes ou o aparecimento de produtos; C_0 é a concentração inicial de vitamina C e C representa a vitamina C no tempo t .

A presença de marcadores de MR (HMF, F, FMC e MF) foi investigada utilizando a técnica RP-HPLC-PDA antes (BT) e depois (AT) dos tratamentos térmicos, bem como nos dias 1, 7, 14 e 21 da produção de iogurte. As condições cromatográficas seguiram o método descrito por Pinto et al., (2024) e as curvas analíticas foram construídas para todas as análises, com um $R^2 > 0,99$ utilizado como critério de aceitação.

Resultados e Discussão

Degradação da vitamina C ao longo do tempo em iogurte: ordens de reação

Foi determinada a ordem de reação para a degradação da vitamina C nos iogurtes sob o efeito de aquecimento a 90 °C durante 5 minutos (90C.5m) e a 90 °C durante 163 minutos (90C.163m), ao longo de um período de conservação de 21 dias é mostrado na tabela 1.

No gráfico de C/C_0 versus tempo em dias para a reação de ordem zero, a linha exponencial ajusta-se bem aos dados analíticos de 90C.5m e 90C.163m, como indicado por um valor R^2 de aproximadamente 0,91. No entanto, considerando os gráficos $\log C/C_0$ versus tempo em dias, pode inferir-se que a reação de primeira ordem descreve melhor a cinética de degradação da vitamina C nas amostras de iogurte, como indicado por um valor R^2 de aproximadamente 0,98.

Tabela 1: Parâmetros cinéticos calculados pelo método gráfico sobre a degradação da vitamina C adicionada ao iogurte. Comparação entre a determinação do teor de vitamina C ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$ iogurte) obtido experimentalmente ($n=4$) e teoricamente.

Amostra	Tempos (Dias)	Exp. (μmol)	Perda %	Ordem zero	Primeira ordem	Baseado Ordem zero		Baseado Primeira ordem	
				C/C_0	$\text{Log}(C/C_0)$	Teo. (μmol)	RE (%)	Teo. (μmol)	RE (%)
90C. 5m	1	31.3	0	1.000	0.000	27.3	12.7	29.0	7.5
	5	20.3	35.1	0.649	-0.188	23.0	13.2	21.2	4.5
	7	19.9	36.4	0.636	-0.197	20.8	4.5	18.2	8.8
	10	15.2	51.4	0.486	-0.314	17.5	15.3	14.4	5.4
	14	13	58.5	0.415	-0.382	13.2	1.3	10.5	19.0
	18	9.6	69.3	0.307	-0.513	8.8	8.2	7.7	19.6
	21	6.8	78.3	0.217	-0.663	5.5	18.4	6.1	10.2
90C. 163m	1	36.5	0	1.000	0.000	31.9	12.7	33.4	8.6
	5	21.7	30.7	0.595	-0.226	26.8	23.5	23.3	7.4
	7	21.6	31.0	0.592	-0.228	24.3	12.3	19.5	9.9
	10	15.7	49.8	0.430	-0.366	20.4	30.2	14.9	5.3
	14	13.6	56.5	0.373	-0.429	15.4	12.9	10.4	23.7
	18	6.6	78.9	0.181	-0.743	10.3	55.7	7.2	9.8
	21	5.9	81.2	0.162	-0.791	6.5	9.6	5.5	6.1

*90C.5m e 90C.163m: iogurte adicionado com 0,012% de vitamina C e tratado a 90 °C durante 5 e 163 minutos, respectivamente. Ambos os iogurtes foram armazenados a $7 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 21 dias.

Exp. = dados experimentais; Teo. = dados teóricos; RE = erro relativo.

O efeito do tratamento térmico foi avaliado utilizando o gráfico apresentado na figura 1. A razão C/C_0 representado pelo gráfico de barras mostra a instabilidade e a taxa de degradação da vitamina C durante os dias de armazenamento.

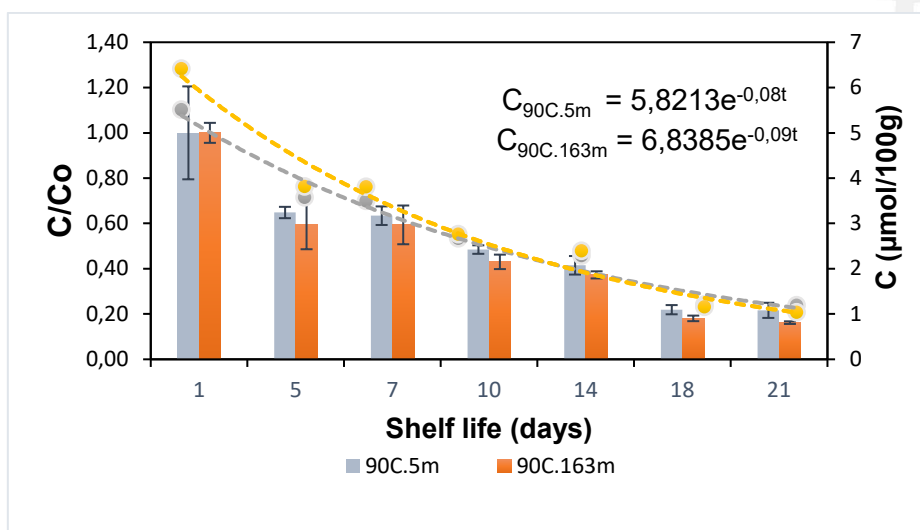


Figura 1: Taxa de degradação da vitamina C, representada pela razão C/C_0 para os tratamentos 90C.5m e 90C.163m, combinada com curvas exponenciais.

Determinação dos marcadores da reação de Maillard e avaliação dos parâmetros de cor - CIE-LAB

Na tabela 2 estão apresentados os teores de HMF, F, FMC e MF quantificados antes e depois do tratamento térmico e após a produção dos iogurtes dos tempos D1, D7, D14 e D21. Os teores de HMF no primeiro dia após a fermentação (D1) são os maiores observados durante todo shelf life, após o tempo D7 estes valores diminuem até o último tempo monitorado, D21. Este perfil sugere que após o tratamento térmico a RM é iniciada. Entre D1 e D7 identificamos a presença do HMF como um parâmetro que marca a etapa intermediária da reação, após esta etapa outros compostos, como o F, são formados utilizando furfurais como precursores.

Tabela 2: Marcadores de reação de Maillard em iogurte de leite tratado termicamente a 90°C.5min e 90°C.163min e armazenado a 7°C durante 21 dias.

Analitos	Trat	AT	DT	D1	D7	D14	D21
HMF livre (mg/100g)	T1	0,021 ±	0,030 ±	0,049 ±	0,023 ±	0,009 ±	0,010 ±
		0,015 ^{Aab}	0,010 ^{Aab}	0,039 ^{Aa}	0,024 ^{Aab}	0,007 ^{Ab}	0,001 ^{Ab}
	T2	0,031 ±	0,028 ±	0,053 ±	0,015 ±	0,007 ±	0,006 ±
		0,011 ^{Aab}	0,013 ^{Aab}	0,032 ^{Aa}	0,013 ^{Ab}	0,001 ^{Ab}	0,005 ^{Ab}
	T3	0,021 ±	0,105 ±	0,126 ±	0,059 ±	0,048 ±	0,052 ±
		0,015 ^{Ac}	0,020 ^{Bab}	0,062 ^{Ba}	0,025 ^{ABbc}	0,008 ^{Bc}	0,006 ^{Bc}
	T4	0,031 ±	0,094 ±	0,173 ±	0,073 ±	0,048 ±	0,043 ±
		0,011 ^{Ac}	0,023 ^{Bab}	0,061 ^{Ba}	0,006 ^{Babc}	0,014 ^{Bbc}	0,009 ^{Bbc}
F livre (mg/100g)	T1	ND	ND	ND	ND	0,040 ± 0,096 ^A	ND
	T2	ND	<LOQ	<LOQ	ND	0,012 ± 0,013 ^A	ND
	T3	ND	ND	ND	ND	0,024 ± 0,026 ^A	ND
	T4	ND	<LOQ	0,023 ± 0,025	ND	0,027 ± 0,029 ^A	ND

*HMF (5-hidroximetilfurfural); F (2-furaldeído); FMC (2-furilmetilcetona); MF (5-metil-2-furaldeído).

T1 e T3 consistiam em 99,988% de leite e 0,012% de vitamina C, enquanto T2 e T4 consistiam em 100% de leite sem adição de vitamina C. T1 e T2 foram tratados a 90 °C durante 5 minutos, enquanto T3 e T4 foram tratados a 90 °C durante 163 minutos Antes do tratamento térmico (BT); depois do tratamento térmico (AT). As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na mesma coluna e as médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a um nível de 5% de probabilidade. HMF (LOQ): 0,012 mg/100g; F (LOQ): 0,009 mg/100g; FMC (LOQ): 0,007 mg/100g; MF (LOQ): 0,013 mg/100g. ND: não detectado.

A figura 2 mostra os valores médios dos parâmetros de cor BI, Chroma e b* após 21 dias de produção. Pode ser visto para a amostra T3 que o tratamento térmico a 90 °C durante 163 min combinado com a adição de vitamina C desempenhou um papel mais importante nas alterações de cor de acordo com BI, Chroma e parâmetro b*. Avaliando a estatística aplicada, as amostras T1 e T2 (90°C/5min) são estatisticamente semelhantes, mas são significativamente diferentes de T3 e T4 (90°C/163min), mostrando a correlação desses parâmetros com o tratamento térmico aplicado.

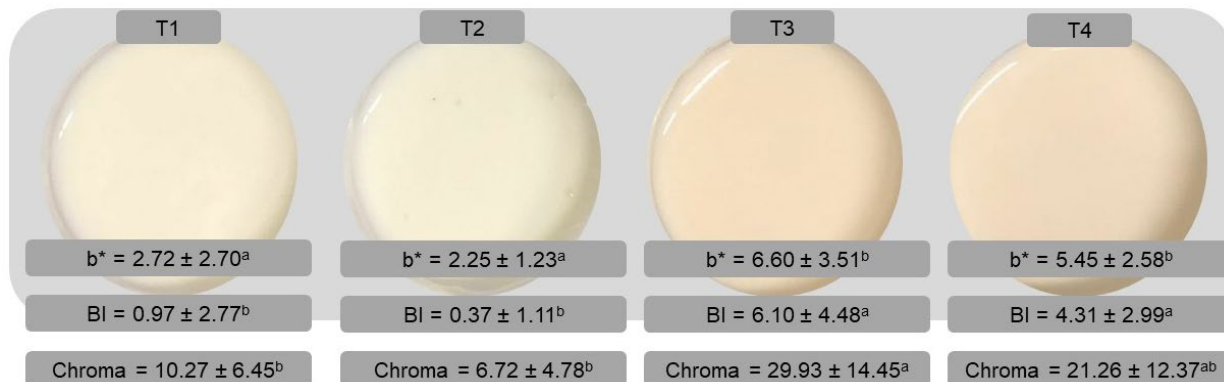


Figura 2: Representação dos resultados colorimétricos para o índice de escurecimento. Parâmetro croma e b^* aos 21 dias após a produção

* T1 e T3 consistiam em 99,988% de leite e 0,012% de vitamina C, enquanto T2 e T4 consistiam em 100% de leite sem adição de vitamina C. T1 e T2 foram tratados a 90 °C durante 5 minutos, enquanto T3 e T4 foram tratados a 90 °C durante 163 minutos.

Conclusão

Em conclusão, foi validado um método analítico utilizando RP-HPLC-PDA para quantificar a vitamina C em iogurtes e verificou-se que era seletivo, exato e preciso. Observou-se também que a equação de primeira ordem foi a que melhor descreveu a diminuição da vitamina C nos iogurtes durante o estudo de 21 dias de vida útil. A equação desenvolvida contribui para o cálculo da quantidade de vitamina C que deve ser adicionada aos iogurtes para compensar a perda prevista e para efeitos de rotulagem. Os testes colorimétricos levam-nos a concluir que a vitamina C está relacionada com os fenômenos de escurecimento. Marcadores analíticos HMF e F foram mais pronunciados após os tratamentos térmicos, particularmente observados em AT e durante os iogurtes D1 e D7.

Referências Bibliográficas

- AOAC. (2012). Official Method 2012.22. In A. O. O. A. CHEMISTS (Ed.). *Vitamin C in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula*.
- Brazil. (2017). Resolução da diretoria colegiada - rdc nº 166. de 24 de julho de 2017. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Diário Oficial da União* nº141. de 25 de julho de 2017.
- Garcia, V. A. d. S., Borges, J. G., Vanin, F. M., & Carvalho, R. A. d. (2020). Vitamin C stability in acerola and camu-camu powder obtained by spray drying. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, 1-13. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.23719>.
- Kessler, H. G. (2002). *Food and Bio Process Engineering: Dairy Technology*. Verlag A. Kessler.
- Ranjan, R., Ranjan, A., Dhaliwal, G. S., & Patra, R. C. (2012). I-Ascorbic acid (vitamin C) supplementation to optimize health and reproduction in cattle. *Vet Q*, 32(3-4), 145-150. <https://doi.org/10.1080/01652176.2012.734640>.
- Pinto, C., Cunha, C., Mesa, N., Sad, M. E., Stephani, R., Perrone, Í., & da Costa, J. (2024). Determination of Maillard Reaction Markers in Doce De Leite by Hplc-Pda. *Química Nova*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20240041>
- Smuda, M., & Glomb, M. A. (2013). Maillard degradation pathways of vitamin C. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(18), 4887-4891. <https://doi.org/10.1002/anie.201300399>.

Autora a ser contatado: Carolina Neves Cunha. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, s/n - São Pedro, Juiz de Fora - MG, 36036-900. Carolinanevescunha1@gmail.com