

DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO IÔNICO NO LEITE UTILIZANDO ELETRODOS SELETIVOS DE ÍONS SOB VARIAÇÕES DE TRATAMENTO TÉRMICO.

DETERMINATION OF IONIC CALCIUM IN MILK USING NA ION-SELECTIVE ELECTRODE UNDER VARYING THERMAL TREATMENTS

Mariana Braga de Oliveira¹, Elisa Reis S. Oliveira², Natália Maria Germano Alves², Nathalia da Silva Campos², Ítalo Tuler Perrone^{1,2}

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

²Departamento de Ciências Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil.

Resumo

A composição química do leite é rica em nutrientes essenciais, destacando-se o cálcio como o mineral mais importante. Na produção de queijos, o cálcio é crucial para a coagulação das proteínas, tornando seu monitoramento essencial. Este estudo teve como objetivo monitorar o teor de cálcio iônico (Ca^{2+}) no leite antes e após diferentes tratamentos térmicos (4-7°C por 24h; 65°C por 30 min; 75°C por 20 seg; 90°C por 2 min) e após a adição de cloreto de cálcio, utilizando o eletrodo íon seletivo LAQUAtwin Ca^{2+} . Amostras de leite foram analisadas, revelando variações significativas no teor de cálcio iônico, especialmente após a pasteurização a 65°C por 30 min. O estudo concluiu que o eletrodo LAQUAtwin Ca^{2+} permite monitorar o teor de cálcio iônico em tempo real, sendo útil no controle da produção de queijos.

Palavras-chave: Cálcio iônico, eletrodo portátil, leite.

Introdução

O leite é um alimento de alto valor nutricional, constituído principalmente de água (87%) e uma variedade de nutrientes essenciais, como proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas e minerais, incluindo cálcio e fósforo (Chauhan *et al.*, 2021; Voronina *et al.*, 2022). A indústria de laticínios tem um papel essencial no fornecimento de alimentos globalmente, destacando-se pela variedade de produtos disponíveis, especialmente queijos (Boland & Hill, 2020). No Brasil, o setor de queijos é significativo e representa cerca de 40% da produção total de leite (Magri, 2021).

A concentração de cálcio iônico (Ca^{2+}) é crucial na qualidade do queijo, pois influencia diretamente a coagulação do leite e as características finais do produto (Deshwal *et al.*, 2023; Franzoi *et al.*, 2018). Desde os anos 1950, a importância do monitoramento dos íons de cálcio durante o tratamento térmico do leite tem sido reconhecida devido às alterações nas concentrações e à coagulação das proteínas (Morrissey, 1969; Foz & Honey, 1975; Nieuwenhuijse & Huppert, 2022). Com o desenvolvimento de eletrodos portáteis, a quantificação rápida de cálcio no leite tornou-se mais acessível (Wardak *et al.*, 2023). No entanto, essa prática ainda não é amplamente adotada na indústria de queijos no Brasil.

O Ca^{2+} no leite se apresenta em duas formas: solúvel (livre) e coloidal (ligada às micelas de caseína) (Ordoñez *et al.*, 2005). O equilíbrio entre essas formas é influenciado por fatores como pH, temperatura e força iônica (Wolfschoon-Pombo, 1997). O tratamento térmico pode alterar a disponibilidade de Ca^{2+} no leite, afetando diretamente a qualidade do queijo final (Guggisberg *et al.*, 2022). Eletrodos de íon seletivo têm sido utilizados para medir diretamente o Ca^{2+} , proporcionando uma forma prática e precisa de controle durante a fabricação de queijo (Tisioulpas *et al.*, 2010).

O objetivo deste estudo é monitorar o teor de Ca^{2+} no leite antes e após a aplicação de diferentes tratamentos térmicos (4 a 7°C por 24h; 65°C por 30 minutos; 75°C por 20 segundos; 90°C por 2 minutos) e após a adição de soluções de cloreto de cálcio (CaCl_2), utilizando um eletrodo de íon seletivo

LAQUAtwin Ca^{2+} . Também se avalia a resposta analítica utilizando soluções modelo de CaCl_2 e aplicação em matrizes lácteas. A proposta é demonstrar a viabilidade de controlar o Ca^{2+} para melhorar a qualidade e consistência do queijo (Wolfschoon-Pombo *et al.*, 2017).

Material e Métodos

Soluções e equipamentos

Para realização das análises, utilizou-se o equipamento LAQUAtwin Ca^{2+} (Horiba, Kyoto, Japão), representado na Figura 1, e um pHmetro de bancada modelo PG 1400 (GEHAKA®). As soluções de calibração foram preparadas nas concentrações de $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ a 25 mmol.L^{-1} a partir de cloreto de cálcio P.A. (Synth).

Verificação da faixa de calibração

Três configurações de calibração foram testadas para garantir a precisão das medições em diferentes faixas de concentração de cálcio. Essas foram: Configuração 1: $0,38 \text{ mmol.L}^{-1}$ e 50 mmol.L^{-1} ; Configuração 2: $3,75 \text{ mmol.L}^{-1}$ e 50 mmol.L^{-1} ; Configuração 3: $0,38 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $3,75 \text{ mmol.L}^{-1}$.

Preparo das amostras de leite

Utilizou-se leite em pó desnatado reidratado em água deionizada a 9% (m/m) de sólidos totais. Foram adicionadas concentrações de CaCl_2 ($50 \mu\text{L}$ e $100 \mu\text{L}$ de CaCl_2 por 100 mL de leite) para obter concentrações de $1,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $3,6 \text{ mmol.L}^{-1}$ de Ca^{2+} . As medidas foram feitas em pH 6,7 e em pH 4,0.

Tratamento térmico e adição de CaCl_2

O experimento foi conduzido com base em um delineamento experimental, conforme representado no esquema da figura 1.

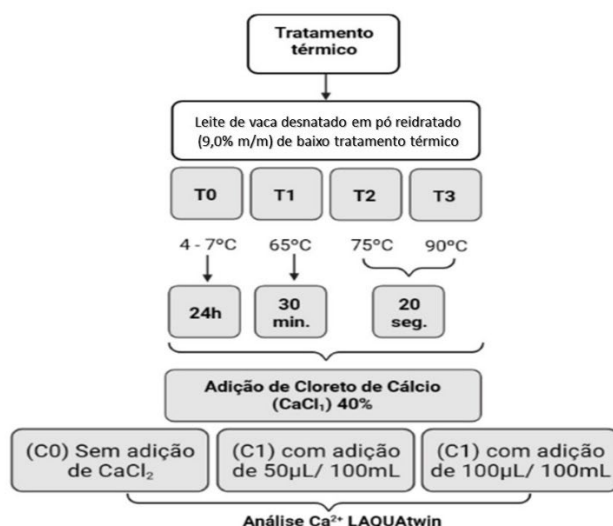


Figura 1: Delineamento experimental (n=3) (T0 = amostra de leite desnatado em pó reidratado (9,0% m/m) após 24 horas a uma faixa de temperatura de 4 °C à 7 °C; T1 = amostra de leite de vaca desnatado pasteurizado na condição lenta de 65 °C por 30 minutos; T2 = amostra de leite de vaca desnatado pasteurizado na condição rápida de 75 °C por 20 segundos; T3 = amostra de leite de vaca desnatado pasteurizado na condição de fermentados, de 90 °C por 20 segundos. Todos os tratamentos foram submetidos a três condições: C0 = sem adição

Resultados e Discussão

Faixa de trabalho e calibração

As três configurações de calibração mostraram respostas confiáveis e robustas. A linearidade das respostas analíticas frente à concentração de Ca^{2+} como pode ser observado através da figura 2 e 3. Foi confirmada com coeficientes de correlação (R^2) superiores a 0,99 em todas as configurações.

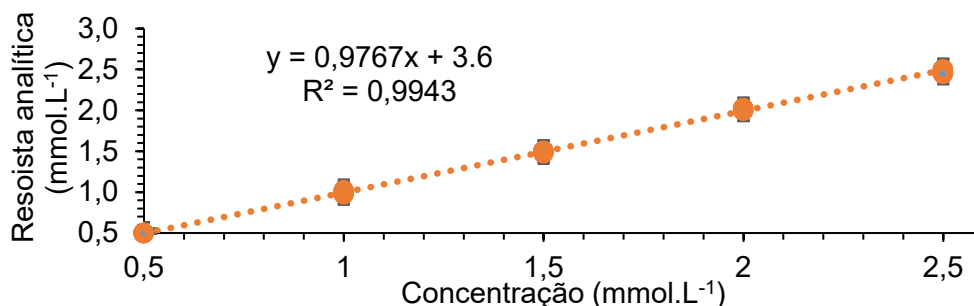


Figura 2: Gráfico das representações analíticas (mmol.L⁻¹) em função da concentração de soluções de CaCl_2 na faixa de concentração entre 0,5 mmol.L⁻¹ a 2,5 mmol.L⁻¹ (n=3)

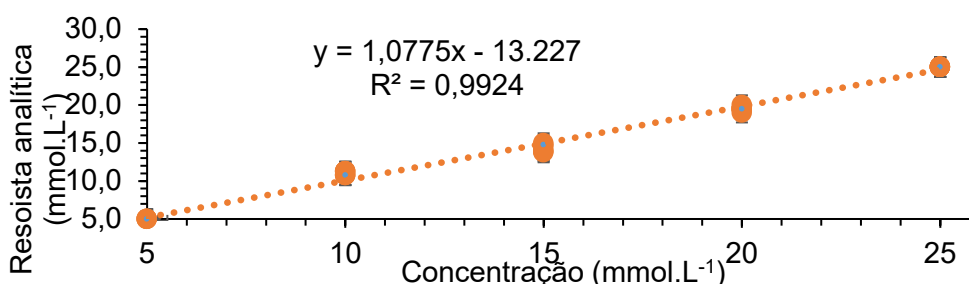


Figura 3: Gráfico das representações analíticas (mmol.L⁻¹) em função da concentração de soluções de CaCl_2 na faixa de concentração entre 3,0 mmol.L⁻¹ a 25,0 mmol.L⁻¹ (n=3)

Influência do pH e tratamento térmico

Os resultados indicaram que o tratamento térmico e o pH influenciam significativamente a concentração de Ca^{2+} no leite (Holt, 1992; Pombo, 2016). A tabela 1 destaca os efeitos do tratamento térmico na concentração de Ca^{2+} , com variações significativas entre os tratamentos. O aumento da temperatura durante a pasteurização levou a um aumento na concentração de cálcio iônico, enquanto o tratamento UHT resultou em uma diminuição, possivelmente devido à formação de complexos insolúveis de cálcio.

Tabela 1: Influência do tratamento térmico e da adição de cloreto de cálcio nos teores de Ca^{2+} e Ca^{2+} em pH 4,0 (n=3)

TRATAMENTOS	C0*			C1			C2		
	pH	Ca^{2+} (mmol.L ⁻¹)	Ca^{2+} pH 4,0 (mmol.L ⁻¹)	pH	Ca^{2+} (mmol.L ⁻¹)	Ca^{2+} pH 4,0 (mmol.L ⁻¹)	pH	Ca^{2+} (mmol.L ⁻¹)	Ca^{2+} pH 4,0 (mmol.L ⁻¹)
T0*	6,65 ± 0,03 ^{aA}	1,6 ± 0,1 ^{aA}	17,4 ± 1,0 ^{aA}	6,54 ± 0,03 ^{aB}	2,1 ± 0,2 ^{aB}	17,2 ± 1,4 ^{aA}	6,54 ± 0,06 ^{aB}	2,8 ± 0,2 ^{aC}	18,9 ± 1,1 ^{aB}
T1	6,56 ± 0,02 ^{bA}	1,4 ± 0,1 ^{bA}	17,3 ± 1,3 ^{aB}	6,49 ± 0,04 ^{abB}	2,0 ± 0,2 ^{abB}	18,7 ± 1,8 ^{aAB}	6,47 ± 0,05 ^{aB}	2,7 ± 0,4 ^{aC}	19,2 ± 1,6 ^{aA}
T2	6,56 ± 0,02 ^{bA}	1,4 ± 0,1 ^{bA}	17,2 ± 1,2 ^{aA}	6,48 ± 0,06 ^{abB}	1,8 ± 0,2 ^{bB}	17,4 ± 1,4 ^{aA}	6,48 ± 0,06 ^{aB}	2,3 ± 0,7 ^{aC}	19,2 ± 1,3 ^{aA}
T3	6,56 ± 0,02 ^{bA}	1,4 ± 0,1 ^{bA}	17,7 ± 1,3 ^{bA}	6,47 ± 0,06 ^{bB}	1,8 ± 0,2 ^{bB}	18,8 ± 1,0 ^{aAB}	6,49 ± 0,05 ^{aB}	2,3 ± 0,2 ^{aB}	19,2 ± 1,0 ^{aA}

Tratamentos térmicos (n=3): T0 (4 °C – 7 °C / 24 horas). T1 (75 °C / 20 segundos), T3 (90 °C / 20 segundos), com ou sem adição de CaCl_2 40%, C0: sem adição de CaCl_2 ; C1: com adição de CaCl_2 1,8 mmol.L⁻¹ e C2: com adição de CaCl_2 mmol.L⁻¹.

Os dados indicam que o controle preciso do teor de Ca^{2+} é essencial para otimizar a produção de queijo. Alterações no pH e tratamentos térmicos podem afetar significativamente a concentração de Ca^{2+} disponível para a coagulação, impactando a textura e a qualidade final do queijo (Morrissey, 1969).

Conclusão

Este estudo investigou a eficácia do equipamento LAQUAtwin Ca^{2+} na medição de cálcio iônico (Ca^{2+}) em soluções padrão de cloreto de cálcio (CaCl_2). Foi encontrada uma relação linear entre a resposta do equipamento e a concentração de íons de cálcio nas amostras. Nas amostras sem adição de CaCl_2 (tratamento C0), observou-se uma redução de Ca^{2+} de até 121%. Com adição de 18 mmol.L⁻¹ de CaCl_2 (tratamento C1), houve um aumento de 37% na concentração de Ca^{2+} , enquanto que, com 36 mmol.L⁻¹ (tratamento C2), o aumento foi de 88%. Esses resultados sugerem que o LAQUAtwin Ca^{2+} é uma ferramenta promissora para o monitoramento de Ca^{2+} em indústrias de laticínios, especialmente na produção de queijos, onde a concentração de Ca^{2+} afeta diretamente a qualidade e o rendimento do produto.

A sensibilidade limitada do eletrodo foi associada ao tipo de tratamento térmico aplicando ao leite, não sendo observadas variações significativas na concentração de Ca^{2+} após diferentes processamentos térmicos. Para melhorar a análise do impacto de diferentes combinações de tempo e temperatura sobre o Ca^{2+} , seria necessário aprimorar a sensibilidade do equipamento. Futuras pesquisas devem explorar a influência de outras condições de processamento e considerar o uso de técnicas de quantificação de Ca^{2+} . A continuidade desses estudos pode ajudar a otimizar os processos de fabricação de queijo, garantindo maior padronização e controle na indústria de laticínios.

Referências Bibliográficas

- BOLAND, M.; HILL, J. World supply of food and the role of dairy protein. In: **Milk Proteins. Academic Press**. p. 1-19, 2020. DOI: 10.1016/b978-0-12-815251-5.00001-3.
- CHAUHAN, S.; RAJAN, V.; KUMAR, A.; KUMAR, A.; SHARMA, S.; KUMAR, S.; SINGH, R. K. A review on nutritional advantages and nutraceutical properties of cow and goat milk. **Int. J. Appl. Res**, v. 7, p. 101-105, 2021.

- DESHWAL, G. K.; KUMAR, A.; KUMAR, R.; SAINI, P. A review on the effect of calcium sequestering salts on casein micelles: From model milk protein systems to processed cheese. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2085, 2023.
- FOZ, P. F.; HOYNES, M. C. T. Heat stability of milk: influence of colloidal calcium phosphate and β -lactoglobulin. **Journal of Dairy Research**, v. 42, n. 3, p. 427-435, 1975.
- GUGGISBERG, D.; PICHLER, H.; SCHMIDT, J.; SCHNEEBERGER, A.; PEKOT, M. Impact of cheese milk cold storage on milk coagulation properties, calcium contents, and cheese yield. **International Dairy Journal**, v. 134, p. 105465, 2022.
- HOLT, C. Structure and Stability of Bovine Casein Micelles. **Advances In Protein Chemistry** v. 43, p. 63-151, 1992. DOI: 10.1016/s0065-3233(08)60554-9.
- MAGRI, L. M. Quais fatores afetam o rendimento da fabricação de queijos? 2021. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/industria-de-laticinios/quais-fatores-afetam-o-rendimento-na-fabricacao-de-queijos-224962/>. Acesso em: 16 set. 2022.]
- MORRISSEY, P. A. The rennet hysteresis of heated milk. **Journal Of Dairy Research**, v. 36, n. 3, p. 333-341, 1969.
- NIEUWENHUIJSE, H.; HUPPERTZ, T. Heat-induced changes in milk salts: a review. **International Dairy Journal**, v. 126, p. 105220, 2022.
- ORDOÑEZ, J. A. *et al.* **Tecnologia de Alimentos: componentes dos alimentos e processos**. V. 1. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- TISIOULPAS, A. *et al.* "Effects of stabiliser addition and in-container sterilization on selected properties of milk related to casein micelle stability". **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1027-34, 2010.
- VORONINA, O. A.; ZHERELINA, A. S.; BRYCHENKO, Y. A.; SHALNEVA, T. I.; SIDOROVA, V. F.; LIPILINA, E. V.; FILIPPOVA, A. A.; PAVLOVA, N. S. Mineral composition of cow milk—a mini review. **Sel'skokhozyaystvennaya Biologiya**, v. 57, n. 4, p. 681-693, 2022
- WARDAK, C.; PIETRZAK, K.; MORAWSKA, K.; GRABARCZYK, M. Ion-Selective Electrodes with Solid Contact Based on Composite Materials: a review. **Sensors**, v. 23, n. 13, p. 5839, 2023.
- WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Influence of calcium chloride addition to milk on the cheese yield. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 4, p. 249-254, 1997.
- WOLFSCHOON POMBO, A. F. *et al.* Buffering curves of ideal whey fractions obtained from a cascade membrane separation process. **International journal of dairy technology**, v. 70, n. 2, p. 287-296, 2017.

Autor(a) a ser contatado: Mariana Braga de Oliveira, Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n – São Pedro, Juiz de Fora – MG, 36036-900. E-mail: tecmarianabraga@gmail.com