

CARACTERIZAÇÃO DE FILMES RÍGIDOS EM LEITES UHT FERVIDOS

CHARACTERIZATION OF RIGID FILMS IN BOILED UHT MILK

Natália Maria Germano Alves¹, Nathalia da Silva Campos¹, Natalia Casas Mesa², Ítalo Tuler Perrone³, Rodrigo Stephani¹

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brasil.

²Cátedra de Química dos Alimentos, Universidade Técnica de Dresden, Dresden, Alemanha.

³Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brasil.

Resumo

O objetivo desse estudo é caracterizar os filmes rígidos formados após a fervura de diferentes tipos de leites UHT da indústria e simular a formação dos mesmos a partir de leites UHT comerciais. A morfologia superficial dos filmes aponta que a mesma é de natureza laminar, onde conseguimos distinguir amostras com ausência e a presença de glóbulos de gordura, além das diferentes frações orgânicas e minerais. Na avaliação do perfil proteico obtido pelo SDS-PGE, é possível comprovar que na composição dos filmes temos uma mistura de proteínas que variam de 15 a 40 KDa. A partir dos espectros Raman foi possível observar diferenças nas vibrações pertencentes às proteínas e gorduras. A obtenção dos filmes demonstra que eles estão relacionados a um excesso de tratamento térmico e consequentemente uma desestabilização adicional de proteínas.

Palavras-chave leite, proteínas, processamento UHT.

Introdução

O leite é composto por mais de 400 moléculas de proteína que constituem duas diferentes fases, a fase solúvel e a coloidal. Devido à grande variabilidade das proteínas presentes no leite, podemos classificá-las como macronutrientes e essas se diferenciam em tamanho, funções e propriedades, tendo uma significativa aplicabilidade industrial. Os três grupos de proteínas do leite são as micelas de caseína, 80%, as proteínas que se associam aos glóbulos de gordura, 1 a 2%, e as do soro do leite, 13 a 18%, onde os dois primeiros grupos são pertencentes à fase coloidal e o último a fase solúvel (BÄR *et al.*, 2019).

Os produtos lácteos, principalmente os leites, sofrem o processamento de *Ultra High Temperature*, UHT, a fim de atingir a esterilidade comercial (KARLSSON *et al.*, 2019). Como consequência desse tratamento térmico, podem ocorrer inúmeras reações químicas, reversíveis ou irreversíveis, nas quais as proteínas podem sofrer modificações estruturais, como desnaturação e agregação (SILVA, 2003; KRISHNA *et al.*, 2021; ANEMA, 2022).

Tratamentos térmicos acima de 65°C reduzem a solubilidade das proteínas pertencentes ao soro, nas quais as imunoglobulinas são classificadas como as mais sensíveis ao calor, seguida pela Albumina Sérica Bovina (BSA), β -Lactoglobulina (β -Lg) e α -Lactalbumina (α -La). (LARSON; ROLLERI, 1955; WIJAVANTI *et al.*, 2019). Tais alterações de solubilidade podem causar formação de gel e/ou sedimentação durante a vida, onde micelas de κ -caseína são encontradas juntamente com quantidades reduzidas de proteínas séricas; ou seja, ambos os fenômenos podem ocorrer (GREWAL *et al.*, 2017). Leites que sofrem algum tipo de tratamento térmico, pasteurizado ou UHT, dispensam o processo de fervura anterior ao consumo, pois o número de microrganismos indesejáveis é consideravelmente reduzido (MERLINO *et al.*, 2022).

Os defeitos causados pela fervura subsequente do leite UHT não são, portanto, relatados na literatura. Para a caracterização dos filmes rígidos obtidos a partir do processo de fervura de diferentes leites UHT foram utilizadas técnicas rápidas e não destrutivas, como Espectroscopia Raman e Microscopia Eletrônica de Varredura, esta última acoplada a um espectrômetro de energia dispersiva de raios X, MEV/EDS (SILVA *et al.*, 2021)

Material e Métodos

Foram fornecidas pelo serviço de atendimento ao consumidor, SAC, sete (7) amostras de filmes rígidos obtidas após o processo de fervura de diferentes tipos de leite UHT comerciais da região Sudeste do Brasil expostos na Figura 1.

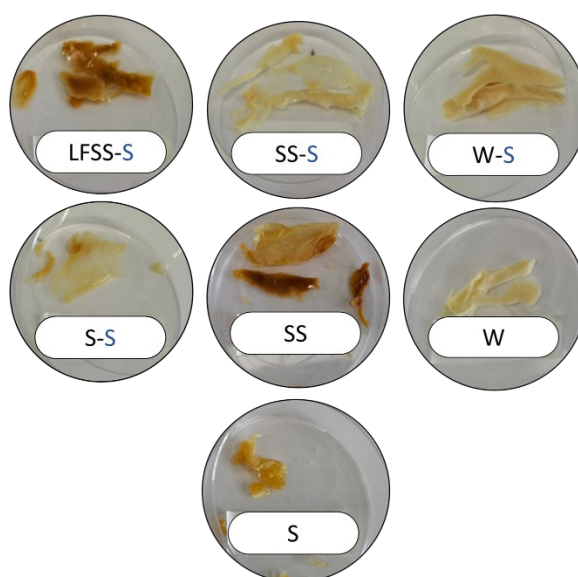


Figura 1. Filmes rígidos (FR) fornecidos pelo SAC das indústrias, obtidos de diferentes leites UHT comerciais: LFSS-S: semidesnatado zero lactose com estabilizante; SS-S: semidesnatado com estabilizante; W-S: integral com estabilizante; S-S: desnatado com estabilizante; SS: semidesnatado sem estabilizante; W: integral sem estabilizante; e S: desnatado sem estabilizante.

Experimentalmente foram obtidas vinte e quatro (24) amostras de filmes rígidos a partir de dois grupos de leites UHT: Grupo (A) com estabilizantes e Grupo (B) sem estabilizantes. O grupo (A) continha filmes rígidos de leite integral ①, semidesnatado zero lactose ②, semidesnatado ③ e desnatado ④. O grupo (B) continha filmes rígidos provenientes de leite integral ⑤, semidesnatado zero lactose ⑥, desnatado ⑦ e pasteurizado integral ⑧. Em tipo de leite UHT, grupos e subgrupos, foram obtidos experimentalmente três (3) filmes rígidos, conforme o fluxograma presente na Figura 2.

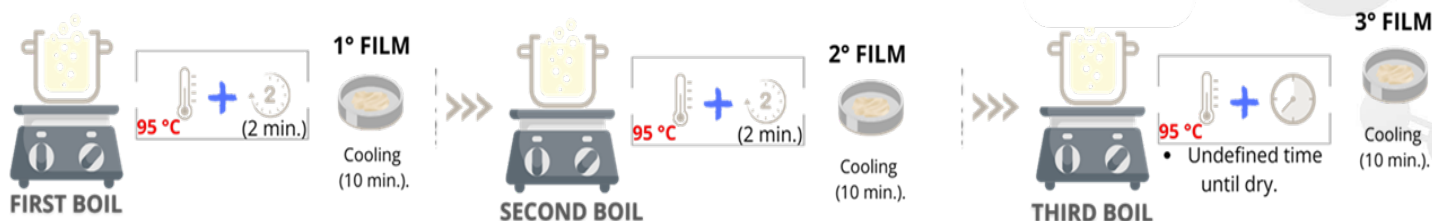


Figura 2. Fluxograma de produção de filmes rígidos preparados em três diferentes etapas do processo de fervura do leite.

As amostras de filmes rígidos, comerciais e experimentais, foram analisadas por Espectroscopia Raman, Microscopia Eletrônica de Varredura acoplado ao módulo de energia dispersiva de Raio-X (MEV-EDS) bem como a análise eletroforética em gel de Poliacrilamida com dodecilsulfato de sódio sob condições desnaturantes (SDS-PAGE).

Resultados e Discussão

A partir da % atômica obtida através da análise de MEV-EDS dos filmes rígidos fornecido pela indústria, figura 3, vimos que há uma tendência de diminuição das frações orgânicas (% atômica de Carbono/% atômica de Oxigênio) em relação à redução de o conteúdo lipídico das amostras e a conformidade da fração mineral (% atômico de Cálcio/% atômico de Potássio) nas amostras analisadas.

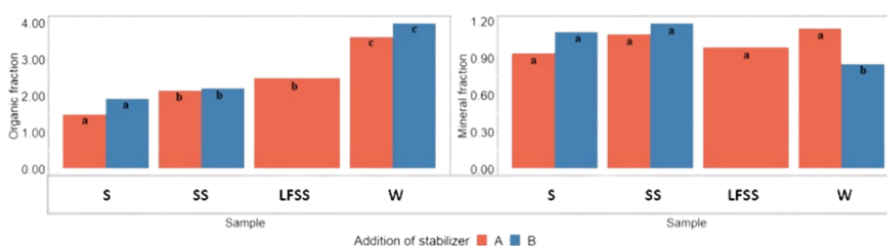


Figura 3. Gráfico de barras dos valores médios das porcentagens atômicas das frações orgânica e mineral do RF provenientes da análise EDS. % at: porcentagem do peso atômico. W: integral; SS: semidesnatado; LFSS: semidesnatado zero lactose; S: desnatado. Letras minúsculas representam grupos formados de acordo com ANOVA bidirecional com 95% de confiança.

Os perfis do espectro Raman das 7 amostras fornecidas pelas empresas e das 24 amostras preparadas são semelhantes. A diferença ocorre na região característica dos lipídios (2.800-3.000 cm^{-1}) bem como na intensidade de algumas bandas, como visto na Figura 4.

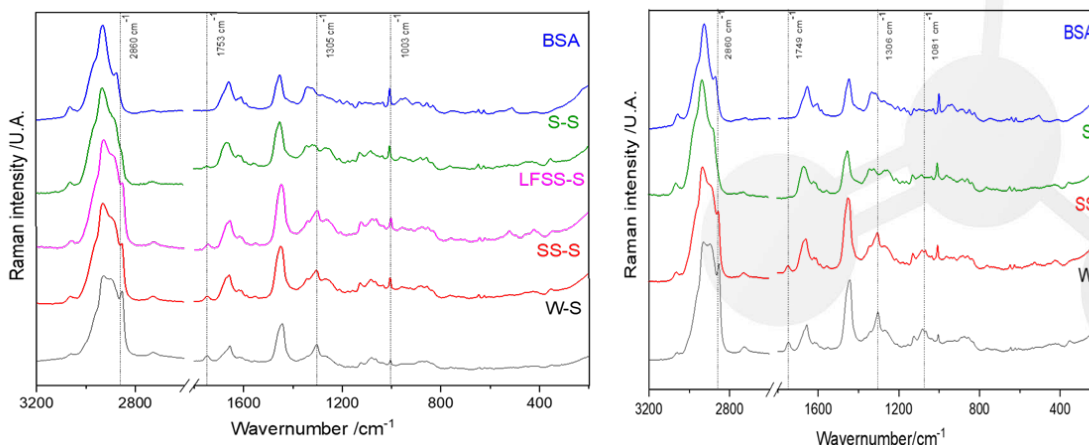


Figura 4. Os espectros Raman de 7 indústrias forneceram amostras em comparação com o espectro do padrão BSA.

O perfil proteico das amostras de filmes rígidos obtidas industrialmente, bem como os produzidos experimentalmente podem ser observados na Figura 5. É possível observar o mesmo grupo de proteínas em todas as amostras, a diferença entre elas é encontrada na intensidade de cada uma das bandas de proteínas e a diferença de solubilidade.

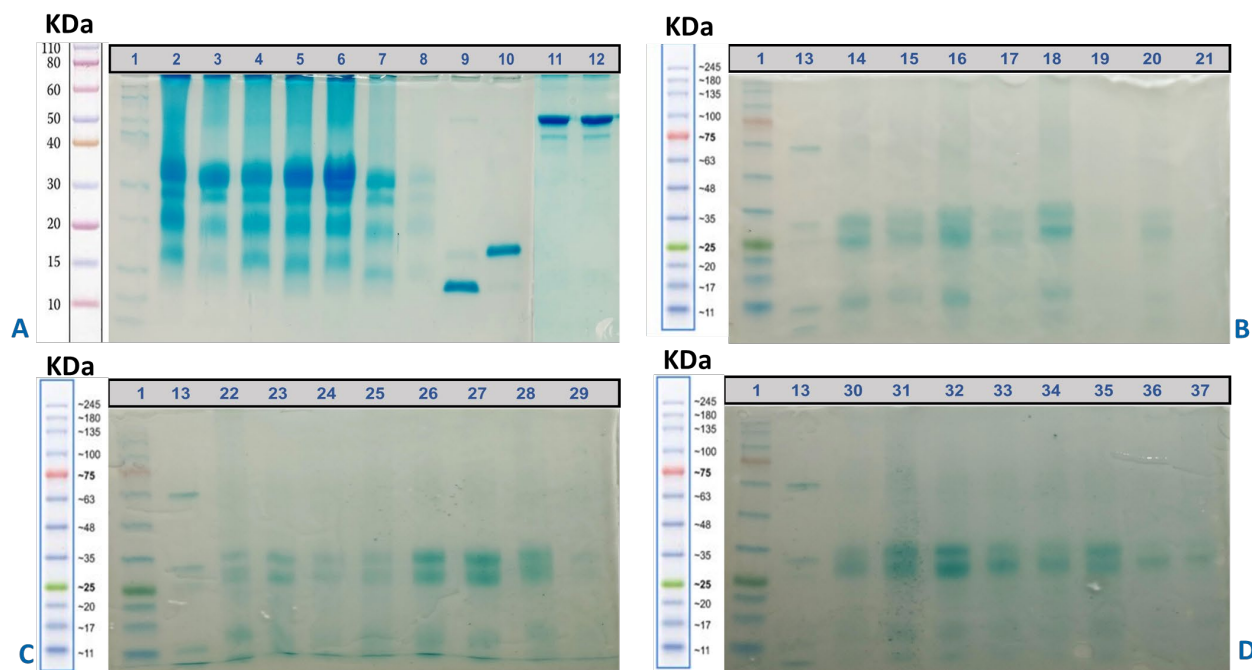


Figura 5. Codificação. Leite inicial: Integral (W), semidesnatado (SS), desnatado (S), semidesnatado zero lactose (LFSS), integral pasteurizado (WP), desnatado zero lactose (LLF) / formação de filme: 1º filme (1F), 2º filme (2F) e 3º filme (3F) / estabilizador: com estabilizador (-S). Géis SDS-PAGE (A) Poço 1 – padrão de peso molecular, poços 2 a 8 – filmes rígidos obtido na indústria. Poços 9 e 10 – padrão α - α -LA e β -LG, respectivamente. Poços 11 e 12 - padrão BSA. (B) Poço 13 – mistura de BSA, α -CN, β -CN, κ -CN, α -LA e β -LG. Poços 14 a 21 – Amostras de filmes rígidos obtidas experimentalmente: W1F-S, W2F-S, W3F-S, LFSS1F-S, LFSS2F-S, LFSS3F-S, LLF1F-S e LLF2F-S, respectivamente. (C) Poços 22 a 29 – Amostras de filmes rígidos obtidas experimentalmente: LLF3F-S, S1F-S, S2F-S, S3F-S, WP1F, WP2F, WP3F e W1F. (D) Poços 30 a 37 – Amostras FR obtidas experimentalmente: W2F, W3F, S1F, S2F, S3F, LLF1F, LLF2F e LLF3F.

Conclusão

É possível concluir que os filmes rígidos, industriais e os obtidos no laboratório, são semelhantes estruturalmente, sendo que a fração orgânica está relacionada com a composição do leite de partida e, a fração mineral é semelhante em todas as amostras. O perfil proteico das amostras contém frações de α -Caseína, β -Caseína, κ -Caseína, α -Lactoalbumina e β -Lactoglobulina.

Referências Bibliográficas

ANEMA, S. G. Denaturation of α -lactalbumin and bovine serum albumin in pressure-treated reconstituted skim milk. **Food Chemistry Advances**, 1, 100022, 2022.

BÄR, C., MATHIS, D., NEUHAUS, P., DÜRR, D., BISIG, W., EGGER, L. AND PORTMANN, R. Protein profile of dairy products: Simultaneous quantification of twenty bovine milk proteins. **International Dairy Journal**, 97, 167-175, 2019.



GREWAL, M. K., CHANDRAPALA, J., DONKOR, O., APOSTOLOPOULOS, V. AND VASILJEVIC, T. Electrophoretic characterization of protein interactions suggesting limited feasibility of accelerated shelf-life testing of ultra-high temperature milk. **Journal of Dairy Science**, 100, 76-88, 2017.

KARLSSON, M. A., LANGTON, M., INNINGS, F., MALMGREN, B., HOJER, A., WIKSTROM, M. AND LUNDH, Å. Changes in stability and shelf-life of ultra-high temperature treated milk during long term storage at different temperatures. **Helyon**, e02431, 2019.

KRISHNA, T. C., NAJDA, A., BAINS, A., TOSIF, M. M., PAPLIŃSKI, R., KAPLAN, M. AND CHAWLA, P. Influence of Ultra-Heat Treatment on Properties of Milk Proteins. **Polymers**, 13, 3164, 2021.

LARSON, B. L AND ROLLERI, G. D. Heat Denaturation of the Specific Serum Proteins in Milk. **Journal of Dairy Science**, 38, 351-360, 1955.

MERLINO, V. O., MASSAGLIA, S., BORRA, D., MIMOSI, A. AND CORNALE, P. Which Factors Drive Consumer Decisions during Milk Purchase? New Individuals' Profiles Considering Fresh Pasteurized and UHT Treated Milk. **Foods**, 11(1), 77, 2022.

SILVA, P. H. F. Leite UHT: Fatores determinantes para sedimentação e gelificação. **Tese de Doutorado**. Federal University of Lavras, 2003.

Silva M. G., De Paula I. L., Stephani R., Edwards H. G. M. and De Oliveira, L. F. C. Raman spectroscopy in the quality analysis of dairy products: A literature review. **Journal of Raman Spectroscopy**, 1-35, 2021.

WIJAYANTI, H. B., BRODKORB, A., HOGAN, S. A. AND MURPHY, E. G. Thermal denaturation, aggregation, and methods of prevention. Whey proteins: From Milk to medicine, chapter 6: **Thermal Denaturation, Aggregation and Methods of Prevention**, 185-247, 2019.

Autor (a) a ser contatado: Natália Maria Germano Alves, doutoranda em Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, São Pedro, Juiz de Fora, MG, 36036-900, natalia.mg.alves@gmail.com.