

## ESTUDO DO EFEITO SINÉRGICO DE DIFERENTES FOSFATOS E CITRATO DE SÓDIO NA ESTABILIDADE COLOIDAL DO LEITE, VISANDO PROCESSAMENTO UHT.

### STUDY OF THE SYNERGISTIC EFFECT OF DIFFERENT PHOSPHATES AND SODIUM CITRATE ON THE COLLOIDAL STABILITY OF MILK, AIMING FOR UHT PROCESSING.

Thaís Lourenço Oliveira<sup>1</sup>; Camille Machado Pimentel<sup>1</sup>; Eduarda Coelho Gaudard Desiderio<sup>1</sup>; Nathalia da Silva Campos<sup>1</sup>, Rodrigo Stephani<sup>1</sup>, Luiz Fernando Cappa de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brasil

#### Resumo

O presente trabalho tem como objetivo analisar o efeito da adição de diferentes sais estabilizantes em diferentes concentrações no leite, visando processamento UHT, além disso, determinar o efeito sinérgico entre eles e a concentração ideal das misturas de fosfatos e citrato de sódio. Para isso, foi feito um planejamento de misturas com 4 componentes, ou seja, 4 estabilizantes, sendo eles citrato de sódio, trifosfato de sódio, monofosfato de sódio e pirofosfato dissódico em diferentes proporções em leite integral pasteurizado. As análises realizadas neste estudo foram: pH, cálcio iônico, cálcio em pH = 4,0, heat coagulation time (HCT) e espectroscopia Raman. Observou-se que os teores de cálcio tendem a diminuir após o tratamento térmico quase em todas as concentrações dos sais estabilizantes estudadas. Além disso, à medida que a concentração do sal estabilizante aumenta, o teor de cálcio diminui, evidenciando a capacidade sequestrante dos sais. Análises pela espectroscopia Raman e RMNES estão sendo feitas e terão posterior análise.

**Palavras-chave** Leite UHT, Sais Estabilizantes, Cálcio, Espectroscopia Raman e Ressonância magnética nuclear do estado sólido.

#### 1. Introdução

O leite é um fluido biológico composto por lipídeos, carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas, com uma média de sólidos entre 12% e 13%. Suas características físicas, como estrutura e cor, são definidas principalmente pelas micelas de caseína e glóbulos de gordura (EMBRAPA, 2021). O leite, obtido da ordenha de vacas sadias e bem alimentadas, é um dos alimentos mais consumidos no mundo devido ao seu alto valor nutricional, rico em vitaminas, sais minerais e cálcio (BRASIL, 2017). Ele também serve como meio de cultura para micro-organismos e tem importantes aplicações industriais na fabricação de produtos lácteos e não lácteos.

No entanto, o leite cru pode ser um risco para a saúde pública devido à possibilidade de contaminação por patógenos. Por isso, passa por tratamentos térmicos como pasteurização e ultrapasteurização para eliminar esses patógenos. A pasteurização, o método mais comuns, envolve aquecer o leite a 72-75 °C por 15-20 segundos e depois resfriá-lo rapidamente. O leite UHT, aquecido a temperaturas ainda mais altas, é popular por sua longa vida útil e facilidade de estocagem sem necessidade de refrigeração, destacando-se entre os derivados lácteos pela sua praticidade.

O processo UHT (Ultra High Temperature), segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), envolve aquecer o leite a 130-150 °C por 2-4 segundos, seguido de resfriamento rápido a 32°C, e envase asséptico em embalagens estéreis e herméticas. Esse leite está presente em 87% dos lares brasileiros e é classificado conforme seu teor de gordura: integral, semidesnatado e desnatado. O tratamento térmico elimina patógenos e destrói micro-organismos e enzimas deterioradoras, causando algumas alterações na composição do leite, como reações de desnaturação das proteínas e formação de complexos entre as proteínas do soro e a caseína, algumas reversíveis e outras irreversíveis (BUENO *et al.*, 2020; GAUCHERON, 2005; HOLT, 1995; NIEUWENHUIJE; HUPPERTZ, 2022; SILVA, 2003).

A estabilidade térmica do leite (ETL) é essencial para manter sua qualidade durante o processamento e armazenamento, sendo influenciada por fatores como equilíbrio salino, pH e alimentação do gado. Estabilizantes como citratos e fosfatos são usados para minimizar instabilidades e prolongar a vida útil do leite, mantendo a estrutura micelar da caseína. Esses estabilizantes podem ser adicionados conforme a acidez ou alcalinidade do leite, com diferentes sais sendo eficazes em diferentes condições de pH. Agentes quelantes de cálcio aumentam a estabilidade térmica ao sequestrar cálcio iônico e se ligando à caseína, evitando assim a precipitação. Escolher os estabilizantes adequados é complexo, pois é necessário equilibrar a redução do cálcio ionizado e o controle do pH para evitar escurecimento e instabilidades durante o tratamento térmico e armazenamento (SINGH, 2004; COSTA, 2016).

Dentre os estabilizantes permitidos pela legislação brasileira, estão: citrato de sódio, monofosfato de sódio, difosfato de sódio e trifosfato de sódio, podendo ser adicionados de forma separada ou em combinação, em uma quantidade não superior a 0,1 g/100mL expressos em P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Brasil, 1997).

O trabalho tem objetivo estudar as propriedades minerais do leite, com foco no mineral cálcio, visando o processamento UHT.

## 2. Material e Métodos

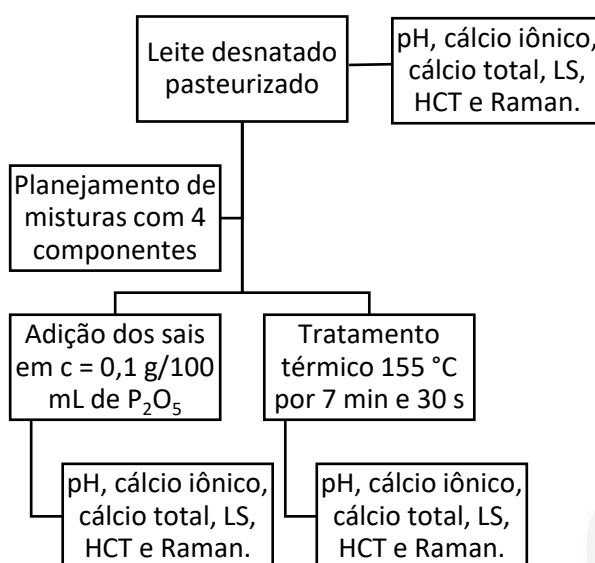
Diferentes combinações de concentrações de diferentes sais estabilizantes foram adicionadas ao leite desnatado pasteurizado refrigerado ( $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ). A combinação dos componentes será preparada conforme um delineamento experimental baseado no planejamento de misturas de quatro componentes, utilizando o método simplex-centroide no programa Minitab.

Tabela 1: Número de experimentos e as proporções das concentrações dos estabilizantes.

Nº do experimento	Citrato de sódio (g/L)	Monofosfato de sódio (g/L)	Difosfato de sódio (g/L)	Trifosfato de sódio (g/L)
1	1	0	0	0
2	0	1	0	0
3	0	0	1	0
4	0	0	0	1
5	0,5	0,5	0	0
6	0,5	0	0,5	0
7	0,5	0	0	0,5
8	0	0,5	0,5	0
9	0	0,5	0	0,5
10	0	0	0,5	0,5
11	0,33	0,33	0,33	0
12	0,33	0,33	0	0,33
13	0,33	0	0,33	0,33
14	0	0,33	0,33	0,33
15	0,25	0,25	0,25	0,25
16	0,63	0,13	0,13	0,13
17	0,13	0,63	0,13	0,13
18	0,13	0,13	0,63	0,13
19	0,13	0,13	0,13	0,63

As amostras preparadas foram submetidas a um tratamento térmico em banho de óleo a 155°C até atingirem a temperatura de 119°C (7:30 minutos). Em seguida, foram resfriadas até a temperatura ambiente em banho de gelo ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Antes do tratamento térmico, foram realizadas análises de pH e cálcio iônico. Após o tratamento, foram feitas as seguintes análises: pH, cálcio iônico, cálcio em pH = 4,0, tempo de coagulação térmica (HCT), distribuição do tamanho das partículas (DTP) e espectroscopia Raman.

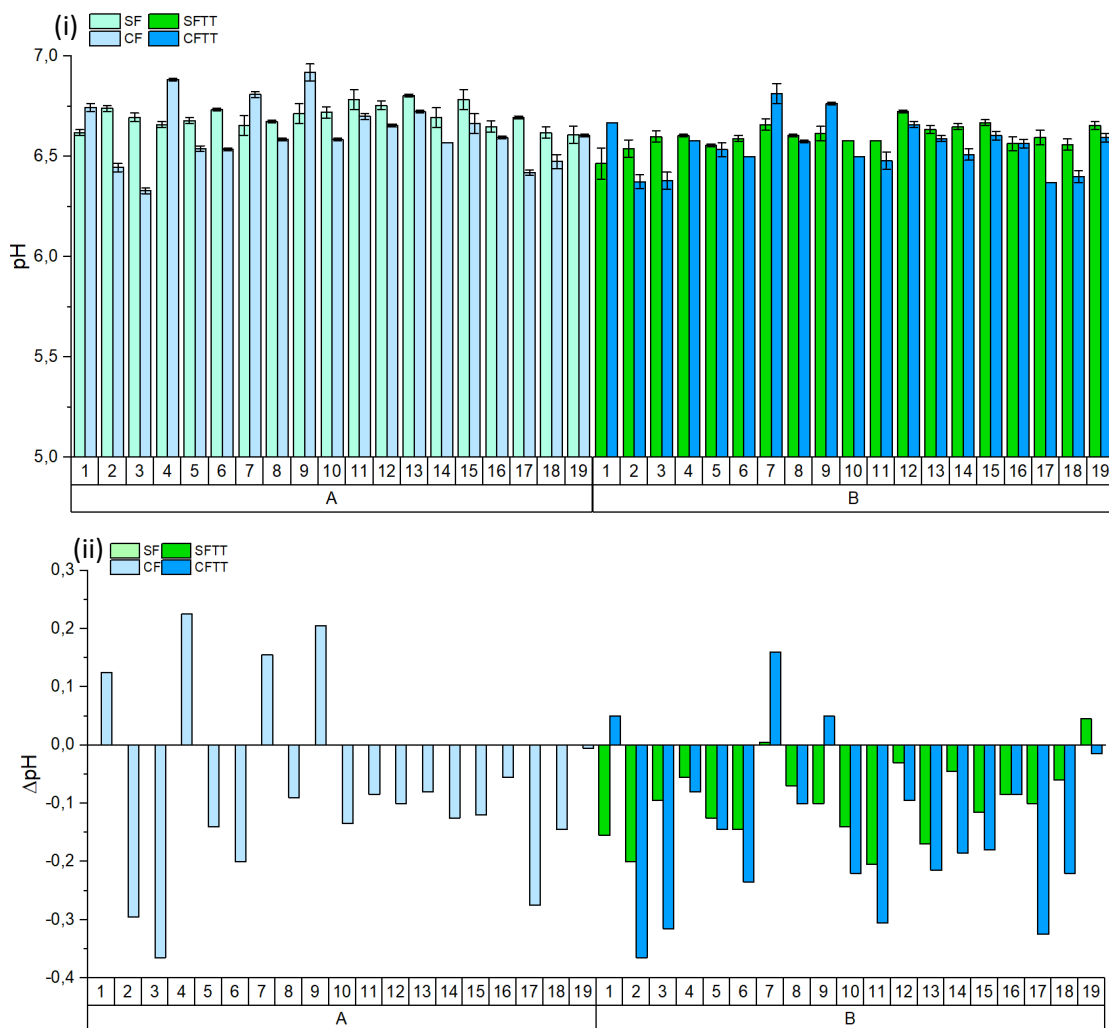
O teor de cálcio iônico foi medido utilizando o medidor portátil de íons cálcio Laquatwin (Horiba Instruments), conforme descrito por Singh et al. (2019). Para determinar os teores de cálcio em pH 4,0, as amostras foram acidificadas com ácido clorídrico p.a. O HCT foi determinado colocando-se um frasco de vidro contendo 10 mL da amostra em um agitador, imerso em um banho de óleo a 155°C, medindo-se o tempo até os primeiros sinais de coagulação visível (Davies & White, 1966; Singh, 2004; Singh, 2019). As análises por espectroscopia Raman foram feitas num espectrômetro Bruker MultiRAM FT-Raman (1064 nm). Podemos representar a parte experimental no Esquema 1.



**Esquema 1:** Delineamento experimental.

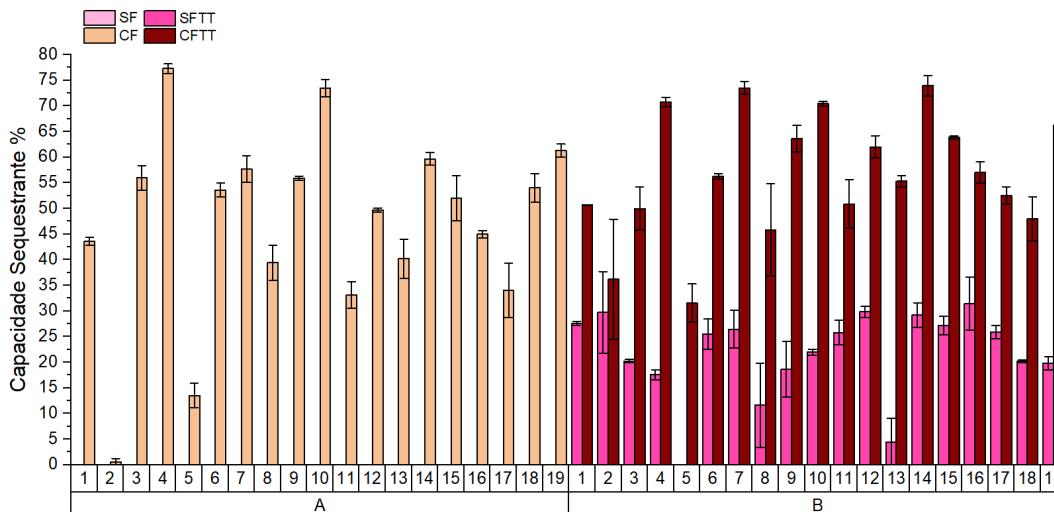
### 3. Resultados e Discussão

Na figura 1, podemos observar como o pH varia com as diferentes proporções dos fosfatos e citrato nos 19 experimentos antes e depois do tratamento térmico. Sendo as proporções de 100%, 63%, 50%, 33,33%, 25% e 13%, variando de acordo com cada experimento.



**Figura 1:** (i) pH de todas as análises e (ii) variação do pH de acordo com cada experimento; (A) Antes do tratamento térmico e (B) depois do tratamento térmico em diferentes concentrações dos sais estabilizantes.

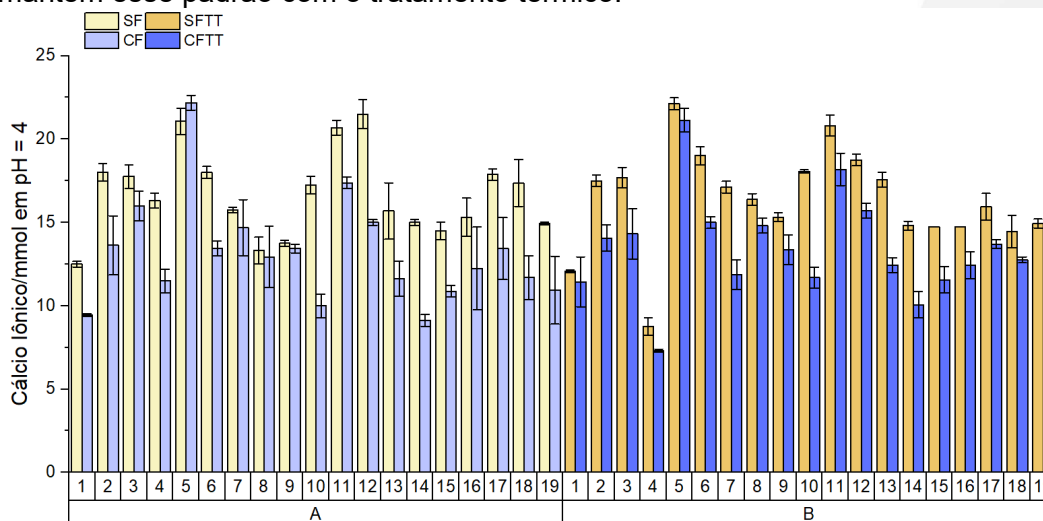
Na figura (1-i), temos os pHs das 19 misturas, sendo SF (sem fosfato) o controle, CF (com fosfato), o leite com os sais adicionados, SFTT (sem fosfato e com tratamento térmico) o controle após o tratamento térmico e CFTT (com fosfato e tratamento térmico) o leite com os sais adicionados após o tratamento térmico. Para melhor visualização dos resultados, temos a variação dos pHs em relação ao controle na figura (1-ii) e podemos notar que ao adicionar os sais em diferentes proporções há uma diminuição desse pH em quase todos os experimentos.



**Figura 2:** Capacidade sequestrante % dos sais comparados ao controle SF (A) Antes do tratamento térmico e (B) depois do tratamento térmico em diferentes concentrações dos sais estabilizantes, sendo SF (sem fosfato) o controle e CF (com fosfato), SFTT (sem fosfato e tratamento térmico) e CFTT (com fosfato e tratamento térmico).

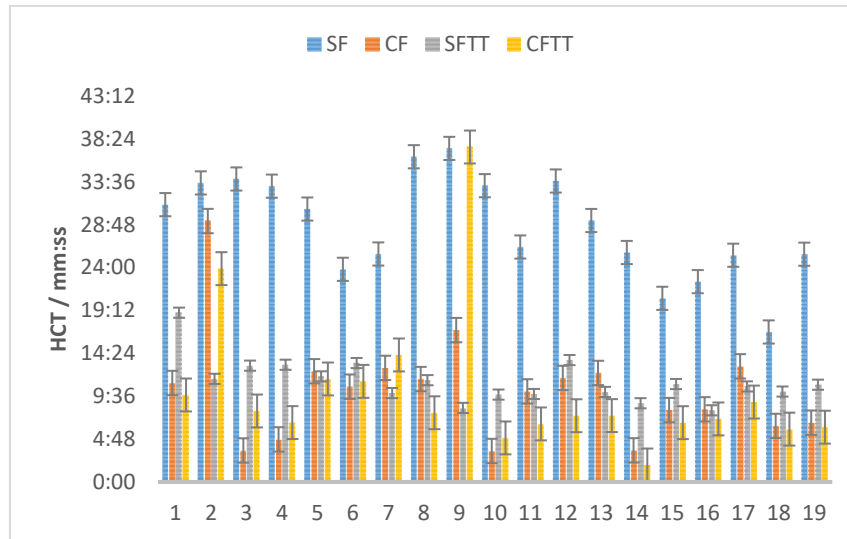
Na literatura (Lewis, 2011; Silva, 2003; Sunkesula *et al.*, 2020) é descrito que teores de cálcio tendem a diminuir após o tratamento térmico e adição dos sais estabilizantes e na Figura 2 é possível observar que a capacidade sequestrante, ou seja, o quanto de cálcio que os sais conseguem quelar, diminuem com o tratamento térmico, pois ocorre o deslocamento do cálcio solúvel para a fase coloidal.

Na Figura 3 são apresentados os teores de cálcio em pH = 4,0 determinados através do medidor de íons cálcio Laquatwin, é possível observar que o teor de cálcio nesse pH diminui quando se adiciona os sais e mantém esse padrão com o tratamento térmico.



**Figura 3:** Teor de cálcio em pH = 4,0 determinados através do medidor de íons Laquatwin (A) Antes do tratamento térmico e (B) depois do tratamento térmico em diferentes concentrações dos sais estabilizantes.

O HCT das amostras nos 19 experimentos segue um padrão, geralmente ao se adicionar os sais e fazer o tratamento térmico, os tempos para coagulação diminuem.



**Figura 3:** HCT (minutos e segundos) das amostras de leite desnatado adicionado as diferentes concentrações de 1 a 19, sendo SF (sem fosfato) o controle e CF (com fosfato), SFTT (sem fosfato e tratamento térmico) e CFTT (com fosfato e tratamento térmico).

#### 4. Conclusão

Olhando para os resultados como um todo, foi possível observar a capacidade sequestrante dos sais estabilizante em todos os experimentos. Os dados serão posteriormente analisados de forma adequada, juntando todas as técnicas que foram utilizadas no presente trabalho e ainda não foram apresentadas como a espectroscopia Raman e Ressonância magnética nuclear do estado sólido. Assim como poder trabalhar com outros tipos de sais, como o hexametáfosfato e fazer um planejamento de misturas com 5 componentes.

#### 5. Referências Bibliográficas

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 370, de 4 de setembro de 1997. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do leite UHT (UAT). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 172, 8 set. 1997. Seção I

BOUMPA, T.; TSILOUPASA.; GRANDISON, A. S.; LEWIS, M. J. Effects of phosphates and citrates on sediment formation in UHT goats' milk. **Journal of Dairy Research**, N°. 75 p. 160–166 2008.

BUENO, T. M.; SCHIASSI, M. C. E. V.; CARVALHO, G. R.; QUEIROZ, F.; PIMENTA, C. J., Desnaturação proteica: importâncias na indústria de laticínios. **Research, Society and Development**, 9 (11), 2020.

DAVIES, D. T.; WHITE, J. C. D. The stability of milk protein to heat: I. Subjective measurement of heat stability of milk. **Journal of Dairy Research**, 33, p. 67-81, 1966.

DE KORT, E. J. P. **Influence of calcium chelators on concentrated micellar casein solutions: from micellar structure to viscosity and heat stability**. Thesis (Doctor). Wageningen University, Wageningen, 153 p., 2012.



DE LA FUENTE, M.; BELLOQUE, J.; JUAREZ, M. Mineral contents and distribution between the soluble and micellar phases in calcium-enriched UHT milks. **Journal Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1708–1714, 2004.

DEMOTT, B. J. Ionic calcium in milk and whey. **Journal Dairy Science**, v. 51, p. 1008-1112, 1968.

GEERTS J. P.; BEKHOF, J. J.; SCHERJON, J. W. Determination of calcium ion activities in milk with an ion selective electrode. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, v.37, p. 197–211, 1983.

LEWIS, M. J. The measurement and significance of ionic calcium in milk – A review. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, n.1, 2011.

PANOUILLE, M.; NICOLAI, T.; DURAND, D. Heat induced aggregation and gelation of casein submicelles. **International Dairy Journal**, 14, 297-303, 2004.

PITKOWSKI, A.; NICOLAI, T.; DURAND, D. Scattering and turbidity study of dissociation of casein by calcium chelation. **Biomacromolecules**, 9, 369-375, 2008.

RENHE, I. R. T.; INDRIS, L. M.; CORREDIG, M. Effect of calcium chelators on heat stability and heat-induced changes of milk microfiltered concentrates. **International Dairy Journal**, v. 82, p. 4-10, 2018.

SILVA, P. H. F. **Leite UHT: Fatores determinantes para sedimentação e gelificação**. 2003. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 163 p., 2003.

SINGH, H. Heat stability of milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, p. 111–119, 2004.

SINGH, J.; PRAKASH, S.; BHANDARI, B.; BANSAL, N. Ultra high temperature (UHT) stability of casein-whey protein mixtures at high protein content: Heat induced protein interactions. **Food Research International**, v. 116, p. 103-113, 2019.

SUNKESULA, V.; KOMMINENI, A.; MELETHARAYIL, G. H.; MARELLA, C.; METZGER, L. E. Short communication: Effect of pH on the heat stability of reconstituted reduce calcium milk protein concentrate dispersions. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 134-137, 2020.

TSIOULPAS, A; KOLIANDRIS, A.; GRANDISON, A. S.; LEWIS, M. J. Effects of stabiliser addition and in-container sterilisation on selected properties of milk related to casein micelle stability. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1027–1034, 2010.

**Autor(a) a ser contatado:** Thaís Lourenço Oliveira; 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; thaislourenco@ufjf.com.br.