

Análise do Teor de Gordura em Leite Através de Técnicas Espectroscópicas

Leonardo S. Cordeiro¹, Marcelo J. Santos², Landulfo Silveira Jr.³

Laboratório de Espectroscopia Biomolecular/IP&D, UNIVAP, Av: Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, 12244-000, São José dos Campos - SP

¹leocordeiro.23@hotmail.com

²marcelosantos_sjc@hotmail.com

³landulfo@univap.br

Resumo - A área de espectroscopia tem trazido imenso campo de conhecimento acerca da estrutura da matéria através do estudo da interação ocorrida entre átomos e moléculas, a partir do estudo dos espectros gerados pela interação da radiação com estes átomos e moléculas. O presente estudo visa determinar a quantificação de gordura em diferentes tipos de leite bovino, através de técnicas de espectroscopia de fluorescência e Raman, possibilitando desenvolver uma maneira viável, rápida e não destrutiva de análise quantitativa.

Palavras-chave: Espectroscopia, fluorescência, leite, teor de gordura, Raman.

Área do Conhecimento: III - Engenharias

Introdução

Diferentes técnicas espectroscópicas vêm sendo utilizadas na análise quantitativa e qualitativa de alimentos. As vantagens são possibilidades de análise não destrutiva e resposta em tempo real da composição da amostra.

A espectroscopia de fluorescência é a técnica que detecta o espectro da radiação emitida por um átomo ou molécula, quando esta relaxa do estado excitado para o estado fundamental. A técnica de espectroscopia de fluorescência baseia-se na excitação da amostra por radiação em comprimentos de onda curtos (ultravioleta e visível) e a observação da resposta luminescente da amostra em comprimentos de onda longos (visível).

O efeito Raman consiste de um espalhamento inelástico por uma molécula da radiação de excitação (COLTHUP et al., 1990; KELLNER, R. et al., 1998). Quando um feixe de luz monocromática incide em um dado material, cujas dimensões são menores que o comprimento de onda da luz incidente, ocorre o fenômeno do espalhamento. A maior parte da luz espalhada apresenta o mesmo comprimento de onda da luz incidente, e este espalhamento é conhecido como espalhamento de Rayleigh. Uma pequena parcela desta luz espalhada, no entanto, apresenta um comprimento de onda diferente daquele da luz incidente, e a sua existência constitui o efeito Raman (ANDERSON, 1973; COLTHUP et al., 1990).

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo (EMBRAPA, 2007 a), e cresce a uma taxa

média anual de 4,4%. Além da importância econômica o leite é considerado um dos alimentos mais completos (EMBRAPA, 2007 b).

Dentre a composição do leite, a gordura se destaca pelo seu valor nutricional e industrial, na fabricação de manteiga, queijos e outros derivados (VALSECHI, 2001).

A análise do teor de gordura no leite é utilizada como base para determinação do valor a ser pago ao produtor pelos beneficiadores, além de possibilitar o controle de qualidade nos diversos estágios, que vai desde o processamento e envase do alimento, passando pelos revendedores até o consumidor final.

Atualmente utiliza-se técnica de fotometria onde é necessário a mistura de um reagente químico para a análise da amostra pelo equipamento. Também é utilizada a técnica do butirômetro de Gerber. O método de Gerber está baseado na propriedade que tem o ácido sulfúrico de digerir as proteínas do leite, sem atacar a matéria gorda. A separação da gordura ocorre por centrifugação (diferença de densidade) e o volume de gordura é obtido diretamente, pois o componente mais leve (a gordura) se acumula na parte superior do butirômetro, isto é, na haste graduada do mesmo.

O objetivo deste estudo é criar um padrão espectroscópico utilizando as técnicas de espectroscopia de fluorescência e Raman, visando a determinação do teor de gordura em leite bovino, através de uma técnica confiável, rápida e não destrutiva, auxiliando no controle de qualidade, nos mais diversos estágios de produção, venda e consumo.

Materiais e Métodos

O primeiro passo foi executar um estudo com amostras de diferentes tipos de leite bovino disponíveis no comércio, considerando que são conhecidos os teores de gordura, e utilizar os resultados como base para tabela de referência e padronização.

As amostras de leite foram obtidas de um laticínio local e adquiridas no mercado local. Foram então analisadas no Laboratório de Espectroscopia Biomolecular do IP&D (Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento) da Univap. Os diferentes tipos de leite foram obtidos conforme segue: O leite tipo "cru" foi coletado em embalagem de vidro devidamente esterilizada antes de qualquer tipo de beneficiamento por parte do laticínio, o tipo "desnatado" também foi coletado neste tipo de embalagem, já executado o procedimento para redução de gordura e homogeneização, já os chamados tipos "B", "padronizado" (antigo tipo "C") e "semi-desnatado" tiveram suas amostras retiradas logo após o envase em suas embalagens definitivas, todas as amostras por sua vez são correspondentes a um mesmo lote.

A Tabela 1 mostra a quantidade de gordura de acordo com laudo técnico fornecido pelo controle de qualidade da empresa fornecedora responsável pelas amostras.

Tabela 1 – Quantidade de gordura padrão nas amostras de leite analisadas.

Tipo	% gordura
Desnatado	0,1
Semi-desnatado	2,0
Padronizado ("C")	3,0
Integral	3,6
Cru	3,9

As embalagens foram mantidas protegidas da luz e em ambiente com temperaturas abaixo de 5 °C até o momento do experimento.

A análise por espectroscopia de fluorescência foi realizada utilizando-se um laser de Argônio (modelo Stabiline 2017) em 488nm, com potência incidente de 15mW e direcionada para a amostra de leite através de um cabo de fibras ópticas. Os sinais foram coletados por um espectrógrafo, e através de uma câmera CCD (modelo DH 520-18F-01), foram feitas 10 aquisições a um tempo de exposição de 0,5s cada.

Os espectros de cada amostra foram normalizados usando como referência os picos de excitação do laser (488nm). Foram realizadas três medidas em cada amostra.

Um outro experimento foi também realizado, utilizando-se agora a técnica de espectroscopia Raman no infravermelho. Neste experimento 6 amostras de leite foram obtidas. As Tabelas 2 e 3

mostram a quantidade de gordura de cada amostra (de acordo com os beneficiadores a variação é de no máximo 0,1%).

Tabela 2 - Quantidade de gordura padrão nas amostras de leite pasteurizado analisadas

Tipo (Cooper)	% gordura
Tipo B	3,3
Padronizado	3,0
Light	0,5

Tabela 3 - Quantidade de gordura padrão nas amostras de leite longa vida analisadas

Tipo (Parmalat)	% gordura
Integral	3,0
Semi-desnatado	1,0
Desnatado	0,0

As amostras pasteurizadas foram mantidas a temperatura de 5°C e o material longa vida mantido a temperatura ambiente.

As amostras foram analisadas no Laboratório de Espectroscopia Biomolecular do IP&D da Univap. Utilizou-se um sistema de espectroscopia Raman no infravermelho próximo para esta análise. Este sistema utiliza um laser de diodo de 100mW (Microlaser Inc, Canada) no comprimento de onda de 830nm. O tempo de exposição de cada amostra foi de 100s.

Cada amostra foi disposta em uma cubeta de quartzo de 5ml, devidamente esterilizada e o laser inserido na amostra com auxílio do mesmo cabo de fibras ópticas. Foram feitas três medidas em cada amostra.

Resultados

Na Figura 1 é apresentada a plotagem do espectro de fluorescência dos diferentes tipos de leite e seus respectivos comprimentos de onda de emissão fluorescente.

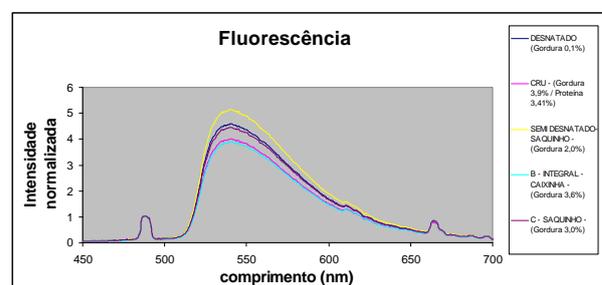


Figura 1 – Espectro de fluorescência das amostras de leite.

Na Figura 2 é apresentado o gráfico em barras da intensidade da fluorescência no pico mais intenso em 550nm de cada amostra e os valores de desvio padrão correspondentes.

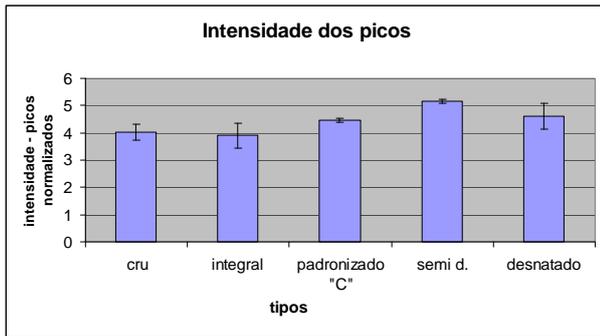


Figura 2 – Intensidade do pico de fluorescência em 550nm e desvio padrão.

Nas Figura 3 e 4 são plotados os espectros Raman referentes aos 3 tipos de leite da marca Cooper e 3 tipos marca Parmalat, respectivamente com teores diferente de gordura.

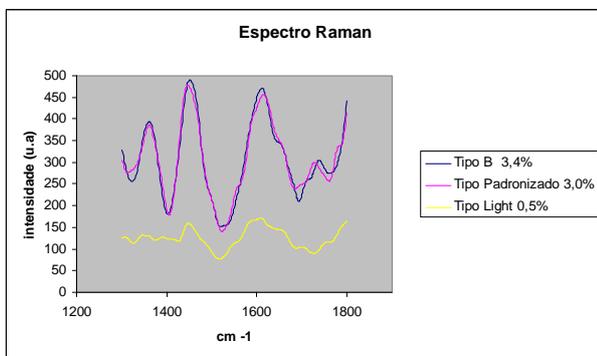


Figura 3 – Plotagem do espectro Raman do leite Cooper com diferentes teores de gordura.

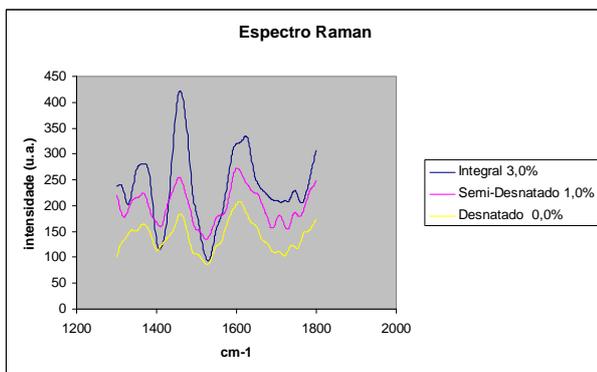


Figura 4 - Plotagem do espectro Raman do leite Parmalat com diferentes teores de gordura.

Os espectros Raman demonstraram diferenças nas intensidades do pico em 1450cm⁻¹ e 1660cm⁻¹, dependendo da quantidade de gordura em cada amostra.

Nas Figuras 5 e 6, são apresentados os gráficos em barras da média dos picos Raman de cada amostra, os valores de desvio padrão correspondentes e as linhas de tendência.

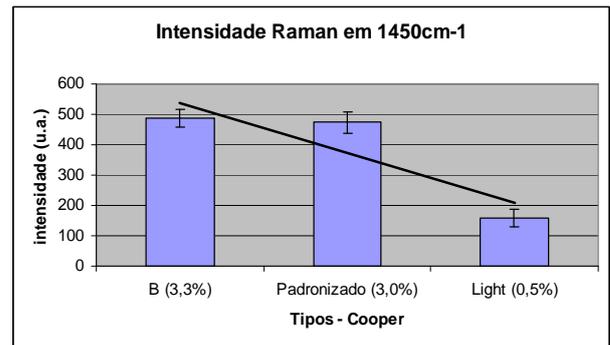


Figura 5 – Intensidade do pico Raman em 1450cm⁻¹ e o desvio padrão correspondente.

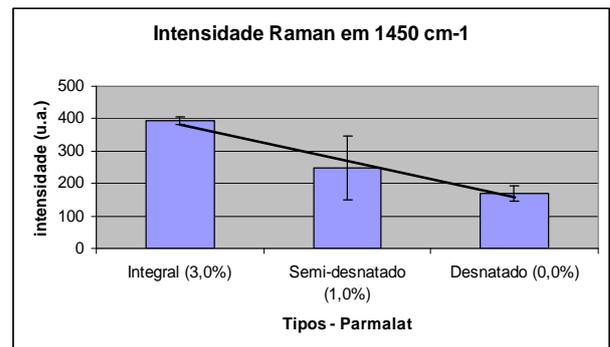


Figura 6 – Intensidade do pico Raman em 1450cm⁻¹ e o desvio padrão correspondente.

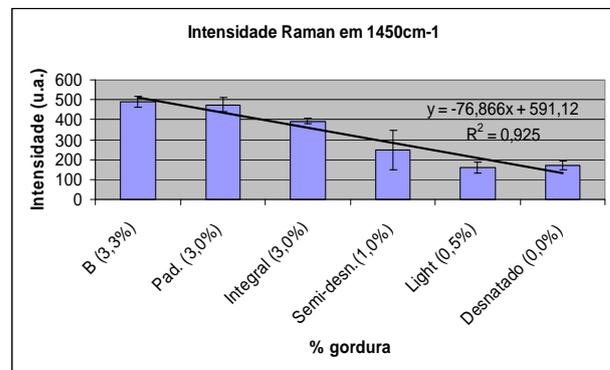


Figura 7 – Intensidade do pico Raman em 1450cm⁻¹ e o desvio padrão correspondente.

$$y = -76,866x + 591,12$$

Equação 1 - y = intensidade do pico Raman em 1450 cm-1 (U.A.), x = teor de gordura quantificado (%).

A linha de tendência descrita na figura 7 dá origem a um coeficiente de determinação múltipla maior que 0,9 ($R^2 = 0,925$), e a equação 1 mostrada acima.

Discussão

Nas técnicas de espectroscopia de fluorescência e Raman, é possível a medição da intensidade dos picos mais intensos e relacioná-los com a quantidade de gordura da amostra.

No método Raman, é possível identificar proporcionalidade entre os picos e os teores de gordura informados pelos laticínios. Já nos espectros de fluorescência, esta relação não ocorreu satisfatoriamente.

Na Figura 3 pode-se perceber que os tipos "B" e "padronizado" estão com os valores dos picos bem próximos ao contrário do tipo "light" que tem os picos bem menos acentuados e com intensidades bem menores, caracterizando os diferentes teores de gordura de cada amostra.

A Figura 4 apresenta diferenças entre os três tipos de leite analisados, o que também caracteriza os diferentes teores de gordura.

Nota-se uma diferença mais acentuada nos picos Raman na região de 1450 cm^{-1} . Estas intensidades são mais bem analisadas nas figuras 5,6 e 7. A figura 7 apresentou uma linha de tendência com coeficiente de determinação múltipla de 0,92, o que indica um forte grau de aderência da linha aos valores do gráfico.

Desta forma a equação 1 poderá ser usada na quantificação de gordura do leite.

Conclusão

A análise dos espectros de fluorescência e Raman das amostras de leite, mostraram que é possível e viável a quantificação da gordura através do método Raman, pois este apresentou um espectro mais detalhado nas amostras.

Este método possibilitou uma relação de quantificação do teor de gordura bem próximo do real.

Segere-se a realização de mais experimentos em espectroscopia Raman, com amostras de leite de diferentes teores de gordura, de forma a obter um banco de dados mais exato.

Referências

- KELLNER, R., MERMET, J. M., OTTO, M.; WIDMER, H. M., Analytical Chemistry, Wiley-VCH: Weinheim, 1998

- GUILLOU, H., PELISSIER, J.P. e GRAPPIN, R., "Méthodes de dosage des protéines du lait de vache", Le Lait, 66, pp. 143-175, 1986.

- COLTHUP, Norman B., DALY, L.H., WIBERLEY, S.E., Introduction to infrared and Raman spectroscopy, 3rd. Ed., Academic Press, 1990.

- GRASSELLI, Jeanette G., BULKIN, Bernard J., Analytical Raman Spectroscopy. A Wiley Interscience Publication.

- ANDERSON, A., The Raman Effect, Vol 2 – Applications, 1973.

- LEWIS, Ian R., EDWARDS, Howell G.M., Handbook of Raman Spectroscopy, from the Research Laboratory to the Process Line CRC; 1st edition (August 15, 2001).

- EMBRAPA 2007(a) <http://www.cnpqgl.embrapa.br/jornaleite/artigo.php?id=11>(Acesso em 29/07/2007)

- EMBRAPA 2007 b <http://www.cnpqgl.embrapa.br/producao/consumo.php> (Acesso em 29/07/ 2007)

- VALSECHI, Octávio Antonio; (2001) Universidade Federal de São Carlos <http://www.cca.ufscar.br/docentes/vico/O%20LEITE%20E%20SEUS%20DERIVADOS.pdf> Acesso em 29/07/2007).