

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Industrialização de produtos lácteos

EFEITO DA TEMPERATURA NA CONCENTRAÇÃO DO CÁLCIO SOLÚVEL DO LEITE

¹Fabiano Freire Costa

²Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito

²Humberto de Melo Brandão

³Saulo Ribeiro da Silva

RESUMO

O presente trabalho objetivou estudar os efeitos da variação da temperatura na concentração do cálcio iônico do leite. Amostras de leite de três animais, após 24 horas armazenados em refrigerador convencional (4°C) foram ultracentrifugadas em quadruplicata (40.000 x g) a 4°C e a 20°C respectivamente, por 60 minutos (Sorvall Centifuges) acoplada ao rotor A-841, (Sorvall, USA). Após ultracentrifugação, o sobrenadante foi retirado e submetido à análise do cálcio solúvel pela técnica via úmida (digestão nitro-perclórica) e leitura através do Espectrofotômetro de Absorção Atômica (Spectra AA 800, Varian). Os resultados mostraram que a porcentagem de cálcio solúvel no sobrenadante após ultracentrifugação foi maior nas amostras tratadas a 4°C ($P < 0,05$). De acordo com os resultados, o abaixamento da temperatura favoreceu a migração do cálcio coloidal para a fase solúvel aumentando os níveis de cálcio iônico no meio e desta forma alterando o equilíbrio salino no leite.

Palavras Chave: cálcio solúvel, leite, temperatura.

INTRODUÇÃO

No leite, a quantidade de cálcio é de aproximadamente 1.200 mgL⁻¹ (Fox & McSweeney, 1998). Aproximadamente, cerca de 1/3 de todo cálcio encontrado no leite está na forma solúvel e 2/3 estão associados às micelas de caseína, como fosfato de cálcio coloidal (aproximadamente 1/2 do cálcio total do leite) ou como íons cálcio ligados a resíduos de seril-fosfato (aproximadamente 1/6 do cálcio total). O cálcio coloidal está diretamente ligado à estrutura e à estabilidade das micelas de caseína (De Kruif & Holt, 2003; Little & Holt, 2004). Do total do cálcio solúvel, aproximadamente 10% está ionizado, a maior parte como citrato de cálcio. Existem importantes equilíbrios entre cálcio iônico, solúvel e coloidal. Esses equilíbrios entre os tipos de cálcio e outros minerais sob condições de pH ou força iônica podem mudar (Agboola & Dalgleish, 1996; Antipova et al., 2002; Little & Holt, 2004). A redistribuição desses sais também pode interferir na distribuição das proteínas micelares e não-micelares presentes no leite (Tsioulpas et al., 2007).

Diversos estudos realizados enfatizam a importância do equilíbrio salino na estabilidade das micelas de caseína (Fox & McSweeney, 1998). Horne & Davidson (1986) mostraram que o aumento do cálcio iônico causa alteração nas cargas totais das micelas, favorecendo a atração eletrostática entre elas. Costa et al. (2008) mostraram que o aumento do nível de cálcio iônico no leite diminui consideravelmente o tamanho das micelas de caseína deixando-as mais compactadas e susceptíveis à instabilidade.

¹ Bolsista de Pós-Doutoramento Capes: e-mail: fafreosta@bol.com.br

² Pesquisadores da Embrapa Gado de Leite: Rua Eugênio do Nascimento nº 610 Bairro Dom Bosco, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. CEP: 36038-330 Tel: 55 32 32494885 Fax: 55 32 3249 4701

³ Aluno do curso de Farmácia Bioquímica da UFJF e bolsista do CNPq na Embrapa Gado de Leite

Estudos realizados por Costa et al (2004) mostraram que a estabilidade do leite ao etanol também sofre influência da temperatura. Estes pesquisadores observaram que leites com baixa contagem bacteriana total, baixa contagem de células somáticas, pH e acidez normais comportavam de maneira diferente quando a temperatura da amostra era 4°C ou 21°C. Na temperatura de 21°C, cerca de 65% das amostras analisadas mantiveram-se estáveis em concentrações alcoólicas superiores em comparação com a temperatura de 4°C.

De acordo com Pierre (1985), a solubilidade dos sais do leite é diminuída pela adição de etanol. O etanol precipita o fosfato de cálcio, deslocando o equilíbrio salino da fase coloidal para a fase aquosa do leite. Com este deslocamento, grande parte do cálcio coloidal que se apresentava nos *nanoclusters* responsáveis pela estabilização das caseínas, passa para a fase aquosa, tornando-se insolúvel com a adição de etanol. Este deslocamento ocorre no sentido de compensar o equilíbrio químico envolvido no meio o que deixa as proteínas instáveis pelo enfraquecimento das forças eletrostáticas de repulsão, aumentando as forças de atração e, consequentemente agregação das micelas de caseína, resultando na coagulação do leite (Horne, 2003).

No Brasil, o teste do etanol, conhecido como teste do alizarol é recomendado pela Instrução Normativa nº 51 (IN51), de 18 de setembro de 2002, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que determina a concentração mínima do etanol em 72% (v/v). Este teste é empregado rotineiramente para avaliar o leite na fazenda, imediatamente antes de ser coletado. Com o processo de granelização do leite o teste do etanol passou a ser realizado no leite refrigerado (Brasil, 2002).

Erroneamente, a maioria das indústrias ainda utiliza o teste do etanol como parâmetro de estabilidade térmica do leite para o processamento industrial. Muitas vezes, para tentar mitigar o problema de leites que apresentam instabilidade durante o processamento, optam por elevar as concentrações de álcool no teste durante a coleta do leite. As consequências desta ação é a condenação de partidas de leite de boa qualidade e a subutilização do sistema de logística e do parque industrial laticinista instalado.

Pensando nesta série de problemas enfrentados tanto pelos produtores de leite como pelos laticínios, o presente trabalho visou estudar os efeitos da temperatura no conteúdo de cálcio solúvel para auxiliar maior compreensão das propriedades físico-químicas do leite.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Ultracentrifugação: Foram coletadas amostras de leite de três animais do Rebanho Experimental da Embrapa Gado de Leite situado no município de Coronel Pacheco. As amostras foram armazenadas em frascos estéreis, refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório para processamento. Após 24 horas em refrigerador convencional (4°C), foram retiradas de cada amostra duas alíquotas. Estas alíquotas foram mantidas às temperaturas de 4°C e 20°C respectivamente. As amostras foram ultracentrifugadas em quadruplicata (40.000 x g) a 4°C e a 20°C respectivamente, por 60 minutos, utilizando uma ultracentrífuga refrigerada (Sorvall Centrifuges) acoplada ao rotor A-841 (Sorvall, USA). Realizada a ultracentrifugação, o sobrenadante foi separado para análise de cálcio (Costa et al, 2008).

2. Determinação do cálcio solúvel: Os sobrenadantes, resultado da ultracentrifugação das amostras de leite a 4°C e a 20°C respectivamente foram analisados pela técnica via úmida (digestão nitro-perclórica) e leitura através do Espectrofotômetro de Absorção Atômica (Spectra AA 800, Varian) (Moraes & Rabelo, 1986).

3. Análise Estatística: O teste de Tukey foi usado para determinar a significância das diferenças entre os tratamentos. As análises foram realizadas em programa apropriado SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999), utilizando-se planilha eletrônica Excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 relaciona a concentração de cálcio solúvel (%) presente nas amostras de leite submetidas à ultracentrifugação nas temperaturas de 4°C e 20°C, respectivamente. De acordo com os resultados é possível observar que existe uma variação significativa ($P < 0,05$) para a concentração de cálcio solúvel no sobrenadante das amostras submetidas às temperaturas de 4°C e 20°C. Nas amostras ultracentrifugadas a 4°C, a concentração de cálcio solúvel (0,042%) é maior ($P < 0,05$) que a concentração presente nas amostras ultracentrifugadas a 20°C (0,034%). Em todas as três amostras analisadas esta diferença foi observada.

A influência da temperatura mais baixa no aumento da concentração do cálcio solúvel no leite pode ser explicada pelo desvio do equilíbrio salino. Quando se abaixa a temperatura o equilíbrio entre o cálcio coloidal e o cálcio solúvel é alterado, decorrente da dissolução fosfato de cálcio coloidal aumentando os níveis de cálcio iônico. O aumento do nível do cálcio iônico altera as propriedades físico-químicas do leite ocasionando uma série de problemas que vão desde variações no rendimento da produção de lácteos à instabilidade das micelas do leite ao processamento térmico, ou o comportamento no teste de estabilidade do etanol (Fox & McSweeney, 1998).

Tabela 1. Concentração do cálcio solúvel nas amostras de leite ultracentrifugada a temperatura de 4°C e 20°C.

Temperatura (°C)	Porcentagem do cálcio iônico nas amostras de leite			
	A	B	C	Média Geral
4	0,050 ^a	0,042 ^a	0,036 ^a	0,042 ^a
20	0,039 ^b	0,035 ^b	0,029 ^b	0,034 ^b

*Na coluna, médias com letras diferentes são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$) ao teste de Tukey.

CONCLUSÃO

A temperatura tem efeito importante sobre a porcentagem de cálcio iônico no leite e esse efeito é mais evidente na temperatura de 4°C comparada à de 20°C. Essa influência pode ser explicada pelo deslocamento do cálcio da fase coloidal para a fase solúvel ocasionando desbalanço do equilíbrio salino e desta forma modificando as propriedades físico-químicas do leite.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, 12042/09) pelo auxílio financeiro, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal (CAPES, PNPd 02858/09/6) pelo fornecimento da bolsa de Pós-Doutoramento a Fabiano Freire Costa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOOLA, S.; DALGLEISH, D.G. Kinetics of the calcium-induced instability of oil-water emulsions: studies under quiescent and shearing conditions. **Food Science Technology**, London, v. 29, n. 5-6, p. 425-432, 1996.

ANTIPOVA, A.S.; DICKINSON, E.; MURRAY, B.S.; SEMENOVA, M. G. One the effect of calcium ions on the sticking behaviour of casein-coated particles in shear flow. **Colloids and Surfaces B- Biointerfaces**, Amsterdam, v. 27, n. 2-3, p.123-131, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. Diários Oficiais da União, Brasília, 2002, 39 p.

COSTA, F.F.; BRITO, M. A. V. P.; SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; ARCURI, E. F. Influência da temperatura no este de estabilidade do leite frente ao etanol. **Revista do Instituto de laticínios Cândido Tostes**, v. 59, n. 339, p 154-156, 2004.

COSTA, F. F.; RESENDE, J. V.; ABREU, L. R.; GOFF, H. D. Effect of calcium chloride addition on ice cream structure and quality. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n.6, p. 2165-2174, 2008.

DE KRUIF, C. G.; HOLT, C. Casein micelle structure, functions and interactions. In: FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. (Ed.). **Advanced dairy chemistry**. 3. ed. New York: Kluwer Academic, 2003. p. 233-276. 1. Proteins.

FERREIRA, D.F. **SISVAR - Sistema de análise de variância para dados balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos, versão 4.3. Lavras: UFLA, 1999.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. New York: Thomson Science, 1998.

HORNE, D. S. Ethanol stability. In: FOX , P. F.; McSWEENEY, P. L. H. (Ed.). **Advanced dairy chemistry**. 3 ed. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2003. p. 975-999. 1. Proteins.

HORNE, D. S.; DAVIDSON, C. M. The effect of environmental conditions on the steric stabilization of casein micelles. **Colloid & Polymer Science**, v. 264, p. 727-734, 1986.

LITTLE, E. M.; HOLT, C. An equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein phosphopeptides. **European Biophysics Journal**, New York, v. 33, n. 5, p. 435-447, 2004.

MORAES, J. V.V.; RABELO, N. A. **Um método simples para a digestão de amostras de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA-DDT / EMBRAPA-CNPAF, 1986. 12 p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 12).

PIERRE, A. Milk coagulation by alcohol. Studies on the solubility of the milk calcium and phosphate in alcoholic solutions. **Le Lait**, v. 65, p. 201-212, 1985.

TSIOULPAS, A.; LEWIS, M.J.; GRANDISON, A.S. Effect of minerals on casein micelle stability of cow's milk. **Journal Dairy Research**, New York, v. 74, n. 2, p.167-173, 2007.