

ANIL



Leite I+D+T

ANO 1 NÚMERO 5

JULHO 2007

NESTA EDIÇÃO:

O Potencial da lactoferrina na prevenção do cancro da mama

Rodrigues, L., Teixeira, J. A.

Monitorização da qualidade do leite de cabra durante a pasteurização e processamento óhmico usando sensores de fibra óptica

Martins, R.C., Coelho, A.M., Lopes, V.V., Pereira, R.N., Teixeira, J.A. e Vicente, A.A.

Caracterização do perfil de ácidos gordos livres durante a pasteurização convencional e óhmica

Pereira, R.N., Martins, R.C., Teixeira, J.A., Vicente, A.A.

A ABRIR

É proibido, de forma geral pela Directiva n.º 2000/13, relativa à rotulagem dos géneros alimentícios, a utilização de informações que induzam em erro o consumidor ou que atribuam propriedades medicinais aos alimentos.

No entanto, com a entrada em aplicação, no passado dia 1 de Julho, do Regulamento n.º 1924/2007, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos, é possível apresentar de uma forma mais coerente toda a informação disponibilizada ao consumidor, uma vez que aí são definidas as disposições específicas para o uso daquelas alegações.

Estão pois já definidas no anexo daquele regulamento as alegações nutricionais que podem ser utilizadas, estando nesta altura, a ser compiladas, quer a nível nacional, quer a nível europeu, as diferentes alegações de saúde com excepção das que refiram a redução de um risco de doença ou que refiram o desenvolvimento e a saúde das crianças.

Este inventário será remetido à EFSA e poderá, esperamos, fazer parte da lista prevista no Regulamento. Ao invés, as alegações relativas quer à redução de um risco de doença, carecem de autorização prévia, depois de avaliação do respectivo processo, a emitir pela própria EFSA.

Deixada esta nota, vemos, uma vez mais, reforçada a necessidade de manter e incentivar a presente publicação, neste que pode ser um útil meio de ligação entre a indústria e as suas necessidades e as Instituições de Investigação e o seu potencial técnico e científico, fonte de conhecimento.

A identificação dos componentes presentes no leite capazes de promover a saúde é uma área vasta de investigação. No presente número de LEITE I+D+T é apresentada uma introdução a um projecto promissor que está a ser desenvolvido por três instituições de investigação e que pretende estudar os efeitos da lactoferrina bovina, recuperada do soro lácteo, como agente anti-cancerígeno na prevenção do cancro da mama. Se agora fazemos esta apresentação, lançamos também o repto aos seus autores para a apresentação dos respectivos resultados finais do projecto.

Também a área das novas tecnologias de processamento é pre-



sentemente um espaço de interesse comum entre a indústria e a comunidade científica. Nesta edição são apresentados dois artigos sobre estudos conduzidos em leite de cabra sobre amostras submetidas a pasteurização convencional, em permutadores de placas, e aquecimento óhmico, por aplicação de um campo eléctrico de forma uniforme ao leite.

No primeiro desses artigos é estudada a viabilidade da espectroscopia UV_VIS_SWNIR na degradação da qualidade do leite de cabra durante os processamentos referidos, enquanto no segundo é referido que os aromas e sabores podem ser, entre outros, afectados positiva ou negativamente, pelo percurso do leite ao longo da cadeia de produção, influenciando desta forma a qualidade do produto final. Assim, pretende-se elucidar como técnicas analíticas de SPME e cromatografia gasosa podem ser relevantes, na avaliação da qualidade do leite, nomeadamente ao nível das características organolépticas, através da monitorização da composição dos ácidos gordos livres quando utilizadas as referidas técnicas de processamento.

Maria Cândida Marramaque
Assessora Técnica

NOTA: Por motivos de força maior, a presente edição do LEITE I+D+T é divulgada um mês depois da sua data prevista. Esperamos, contudo, retomar, já no final do próximo mês de Setembro, o ciclo regular e pontual desta publicação.

O POTENCIAL DA LACTOFERRINA NA PREVENÇÃO DO CANCRO DE MAMA

LÍGIA RODRIGUES, JOSÉ ANTÓNIO TEIXEIRA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA E BIOENGENHARIA, CENTRO DE ENGENHARIA BIOLÓGICA, UNIVERSIDADE DO MINHO

lrmr@deb.uminho.pt, jateixeira@deb.uminho.pt

Nas últimas décadas, estudos clínicos e mecanísticos revelaram a existência de inúmeras relações entre saúde e nutrição. Como tal, a evidência de que a dieta é um factor ambiental chave que afecta a incidência de uma série de doenças crónicas é consensual. Claramente, existe um enorme potencial de benefícios sócio-económicos que poderá resultar de uma caracterização bem sucedida de quais os constituintes dos alimentos que promovem a saúde, bem como da sua exploração [1-2, 3].

Os alimentos contêm milhares de substâncias biologicamente activas, muitas das quais com um elevado potencial no que respeita aos seus benefícios para a saúde e possibilidade de utilização para fins quimioterapêuticos [3]. A quimioterapia consiste no uso de químicos para a prevenção, interrupção ou regressão de um cancro. Uma vez que o cancro é um processo que ocorre em multi-etapas e que geralmente demora vários anos a manifestar-se e/ou desenvolver-se em humanos, existe uma janela de oportunidade para intervir ou prevenir o seu desenvolvimento. Os agentes quimioterapêuticos terão que reunir algumas características importantes, nomeadamente espera-se que possam ser utilizados pela generalidade da população.

Portanto, não poderão ser tóxicos, dispendiosos e deverão estar disponíveis para aplicação por via oral. Actualmente existe um grande número de compostos naturais e sintéticos que possuem propriedades anti-cancerígenas comprovadas em estudos usando culturas celulares e/ou modelos animais. Contudo, a viabilidade de utilização de agentes quimioterapêuticos em humanos foi apenas consolidada com a demonstração da capacidade do Tamoxifen prevenir o cancro da mama em humanos [4].

Uma área de investigação promissora consiste nos estudos clínicos com proteínas do leite reportadas como preventivas de cancro. Algumas proteínas do leite e/ou soro possuem efeitos anti-proliferativos, anti-inflamatórios e antioxidantes [5,6].

A lactoferrina conhecida pela sua acção inibitória na proliferação celular, bem como pelas suas actividades anti-inflamatórias e antioxidantes, tem sido também reportada como um agente anti-cancerígeno [7-10]. Trata-se de uma glicoproteína de 80 kDa constituída por 703 aminoácidos originalmente isolada do leite. Esta proteína tem como característica o facto de se ligar ao ferro e como tal, pode encontrar-se nos fluidos corporais em várias formas, tais como sem ferro, ligada a uma molécula de ferro, e ligada a duas moléculas de ferro. Os seus receptores podem ser encontrados no tecido intestinal, nos monócitos e macrófagos, nos neutrófilos, linfócitos, plaquetas e em algumas bactérias.

A lactoferrina encontra-se predominantemente nos produtos de excreção das glândulas exócrinas dos aparelhos digestivo, respiratório e reprodutivo. Assim, é possível encontrar esta proteína no leite, nas lágrimas, na saliva e no sêmen. Adicionalmente, a lactoferrina pode ser encontrada no sangue, sendo que a lactoferrina do plasma deriva dos neutrófilos que a sintetizam durante os processos inflamatórios.

A lactoferrina produzida por diferentes espécies apresenta uma homologia na sequência de aminoácidos de cerca de 70 por cento. Por exemplo, comparando a lactoferrina de origem bovina com a lactoferrina de origem humana verificou-se uma homologia de 69 por cento da sequência.

Neste sentido, uma interessante fonte de lactoferrina consiste no soro de queijo bovino, onde esta se encontra com uma concentração de cerca de 0.1 g/l. Actualmente, existe um interesse comercial considerável na preparação das proteínas individuais, a partir de soro de queijo, para alimentação e aplicações nutricionais e terapêuticas.

A existência de soro é fortemente condicionada pela produção de queijo, uma vez que o soro é um subproduto incontornável na produção de qualquer tipo de queijo. Apesar de cerca de metade do soro produzido no mundo ser eliminado como efluente, deitado nas terras ou em sistemas hídricos, resultando numa perda importante de energia alimentar, bem como criando uma grande perda económica, a outra metade é processada em vários produtos alimentares ou rações.

Portugal não é excepção à regra e, a maioria das indústrias de laticínios não contemplam ainda uma fase de valorização de resíduos, especificamente das proteínas isoladas. Contudo, e tal como referido anteriormente, algumas proteínas do soro, como por exemplo a lactoferrina, possuem um potencial de aplicação que deverá merecer uma especial atenção por parte do tecido empresarial português.

Estudos efectuados com roedores (*in vivo*) têm demonstrado que a administração oral de lactoferrina reduz significativamente cancro quimicamente induzido e inibe a angiogénese [9,11-12]. Adicionalmente, demonstrou-se que a administração subcutânea de LF inibe o crescimento de tumores sólidos implantados em ratinhos e previne o aparecimento de metástases [13]. Estes efeitos da LF têm sido atribuídos ao seu potencial imunomodulatório e à sua capacidade de activar células T e NK [13-15].

A lactoferrina possui também a capacidade de limitar o crescimento de células tumorais e foi demonstrado que a adição de lactoferrina exógena ao meio de cultura das linhas celulares tumorais induz a fase G1/S do ciclo de vida da célula [14]. No entanto, ainda não está totalmente elucidado se a lactoferrina ingerida oralmente

Quadro 1 – Efeito da administração oral de lactoferrina ou produtos relacionados.

Modelo de Cancro	Eficácia	Modelo Animal	Agente administrado e dose	Referências
Cancro do cólon, pulmão, esófago, bexiga, fígado e língua induzido por agentes químicos cancerígenos	Inibição do desenvolvimento do tumor	Rato	LF de origem bovina 0.2 e 2% na dieta	[15]
Desenvolvimento espontâneo de polipos intestinais	Inibição do desenvolvimento de polipos	Apc ^{Mn} Ratinho	LF de origem bovina 2% na dieta	[12]
Injecção de células tumorais	Inibição do desenvolvimento de tumores	Ratinho	LF de origem bovina 0.3 g/kg LF recombinante de origem humana 1 g/kg na dieta	[13-15]

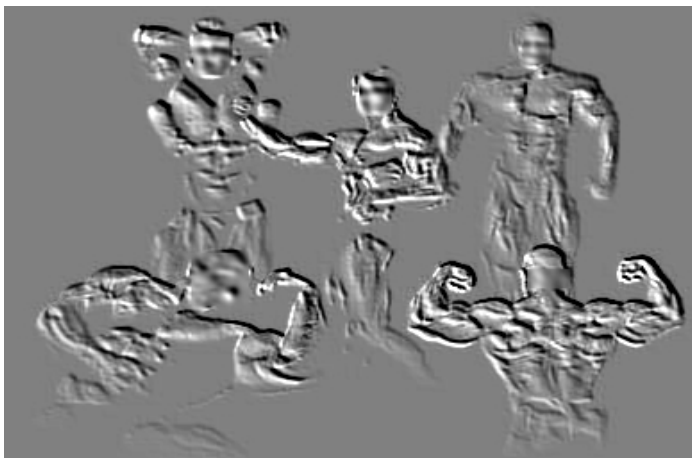
é absorvida no intestino, e se exerce os seus efeitos de protecção no local onde a sua acção é expectável, especialmente no caso de doenças que ocorrem em locais distantes do canal digestivo.

Muitos componentes provenientes de alimentos na forma de proteínas biologicamente activas, péptidos, lípidos e outras substâncias sobrevivem ao processo digestivo no tracto gastrointestinal e podem entrar na circulação. Por exemplo, uma grande variedade de péptidos pode ser gerada durante a digestão de proteínas ingeridas no seu percurso no tracto gastrointestinal.

As proteínas ingeridas são na sua maioria absorvidas na forma de pequenos péptidos, no entanto, pequenas quantidades de péptidos maiores ou pequenas proteínas podem também ser absorvidos. Neste sentido, é possível que péptidos intactos sejam absorvidos e exerçam a sua actividade biológica em condições de saúde ou doença.

A lactoferrina é um péptido resultante da hidrólise ácida da lactoferrina com pepsina, cuja actividade antimicrobiana está bem estabelecida [16]. Evidências recentes de estudos *in vivo* indicam que a administração oral ou subcutânea da lactoferrina previne a ocorrência de metástases, angiogénese e crescimento dos tumores [17-18]. Contudo, os mecanismos pelos quais a lactoferrina exerce a sua acção são ainda desconhecidos.

Muito poucos estudos têm reflectido uma abordagem integrada e sistematizada dos efeitos da lactoferrina como um agente anticancerígeno em cancro de mama, e apesar de já existirem alguns resultados de estudos realizados com recurso a técnicas altamente sofisticadas de genómica e proteómica [19-21], falta uma aplicação consistente de ferramentas de bioinformática para a interpretação dos dados gerados.



Adicionalmente, apesar dos inúmeros estudos demonstrando os efeitos fisiológicos benéficos das proteínas e péptidos do soro de leite, particularmente, em experiências com animais, o conhecimento ainda é muito limitado sobre esses efeitos no organismo humano. Muito há que se investigar sobre os verdadeiros mecanismos de acção dessas proteínas e péptidos e das quantidades que devem participar da dieta para produzir seus efeitos benéficos.

Neste sentido, está a ser desenvolvido no Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, em colaboração com o Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto e a Univerdade de Lund (Suécia), um projecto que pretende estudar os efeitos da lactoferrina como agente anti-cancerígeno em cancro de mama e elucidar os mecanismos pelos quais a sua ingestão poderá estar relacionada com diferentes estados de saúde. Vários tecidos de cancro de mama e linhas celulares estão a ser estudados de forma a avaliar os seus perfis de expressão de lactoferrina e lactoferricina. Adicionalmente, o efeito da administração oral e subcutânea de lactoferrina e lactoferricina será também estudado recorrendo a experiências com ratos (*in vivo*).



Referências bibliográficas:

- [1] Elliot, R., Ong, T (2002) British Medical Journal. 324:1438-1442.
- [2] German, J (2005) Journal of the American Dietetic Association. 105: 530-531.
- [3] Petricoin, E., Liotta, L (2003) Journal of Nutrition. 133:2476-2484.
- [4] Jordan, V.C., Morrow, M (1999) Endocrine Reviews 20:253-278.
- [5] Hakkak, R., Korourian, S., Shelnut, S.R., Lensing, S., Ronis, M. J., Badger, T.M (2000) Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 9:113-7.
- [6] Tsuda, H., Sekine, K., Ushida, Y., Kuhara, T., Takasuka, N., Iigo, M., Han, B.S., Moore, M.A (2000) Mutation Research 462:227-33.
- [7] Baveye, S., Ellass, E., Mazurier, J., Spik, G., Legrand, D (1999) Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 37:281-6.
- [8] Brock, J.H (2002) Biochemistry and Cell Biology 80:1-6.
- [9] Tsuda, H., Sekine, K., Fujita, K-i, Iigo, M (2002) Biochemical Cell Biology. 80: 131-136.
- [10] Ward, P.P., Uribe-Luna, S., Conneely, O (2002) Biochem Cell Biol 80:95-102.
- [11] Tsuda, H., Sekine, K., Ushida, Y., Kuhara, T., Takasuka, N., Iigo, M., Han, B.S., Moore, M.A (2000) Mutation Research. 462: 227-233.
- [12] Ushida, Y., Sekine, K., Kuhara, T., Takasuka, N., Iigo, M., Maeda, M., Tsuda, H (1999) Japanese Journal of Cancer Research. 90: 262-267.
- [13] Bezault, J., Bhimani, R., Wiprovnick, J., Furmanski, P (1994) Cancer Research 54:2310-2.
- [14] Damiens, E., El Yazidi, I., Mazurier, J., Duthille, I., Spik, G., Boilly-Marer, Y (1999) Journal of Cell Biochemistry 47:486-98.
- [15] Sekine, K., Ushida, Y., Kuhara, T., Iigo, M., Baba-Toriyama, H., Moore, M.A., Murakoshi, M., Satomi, Y., Nishino, H., Kakizoe, T., Tsuda, H (1997) Cancer Letters 121:211-6.
- [16] Yamauchi, K., Tomita, M., Giehl, T.J., Ellison, R.T (1993) Infection and Immunity 61:719-28.
- [17] Cho E, Smith-Warner SA, Spiegelman D, Beeson, W.L., van den Brandt, P.A., Colditz, G.A., Folsom, A.R., Fraser, G.E., Freudenheim, J.L., Giovannucci, E., Goldbohm, R.A., Graham, S., Miller, A. B., Pietinen, P., Potter, J.D., Rohan, T.E., Terry, P., Toniolo, P., Virtanen, M.J., Willett, W.C., Wolk, A., Wu, K., Yaun, S-S., Zeleniuch-Jacquotte, A., Hunter, D.J (2004) Journal of National Cancer Institute 96:1015-22.
- [18] Yoo, Y-C., Watanabe, S., Watanabe, R., Hata, K., Shimazaki, K., Azuma, I (1997) Japanese Journal of Cancer Research 88:184-90
- [19] Forozan, F., Mahlamaki, E. H., Monni, O., Chen, Y., Veldman, R., Jiang, Y., Gooden, G.C., Ethier, S.P., Kallioniemi, A., Kallioniemi, O.- (2000) Cancer Research. 60: 4519-4525.
- [20] Perou, C.M., Jeffrey, S.S., van de Rijn, M., Rees, C.A., Eisen, M. B., Ross, D.T., Pergamenschikov, A., Williams, C.F., Zhu, S.X., Lee, J. C., Lashkari, D., Shalon, D., Brown, P.O., Botstein, D (1999) PNAS USA. 96:9212-9217.
- [21] Shan, L., He, M., Yu, M., Qiu, C (2002) Carcinogenesis. 23:1561-1568

MONITORIZAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE DE CABRA DURANTE A PASTEURIZAÇÃO E PROCESSAMENTO OHMICO USANDO SENSORES DE FIBRA ÓPTICA

MARTINS, R.C.^{1A}, COELHO, A.M.¹, LOPES, V.V.², PEREIRA, R.N.¹, TEIXEIRA, J.A.¹ E VICENTE, A.A.¹

¹INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA E BIOENGENHARIA, CENTRO DE ENGENHARIA BIOLÓGICA, UNIVERSIDADE DO MINHO

²LASEEB, INSTITUTO DE SISTEMAS E ROBÓTICA, INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO, UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

^A*ruimartins@deb.uminho.pt*

Sumário: Este estudo avalia a viabilidade da espectroscopia UV-VIS-SWNIR na degradação da qualidade do leite de cabra durante a pasteurização e aquecimento Ohmico. Foram utilizados: i) leite de cabra cru; ii) leite não processado, mas passado pelas bombas do pasteurizador e aquecimento Ohmico; e iii) leite processado por pasteurização e aquecimento Ohmico. Os espectros são recolhidos por sensor de fibra óptica em comprimentos de onda UV-VIS e UV-SWNIR. As amostras foram realizadas a uma temperatura de $(18 \pm 2.0^\circ\text{C})$, e os dados foram registados em cada produto e para cada gama espectral. Os espectros das amostras foram então normalizados e corrigidos usando o algoritmo de correcção da robusta da dispersão de radiação, sendo depois decomposto utilizando o algoritmo de decomposição de valores singulares relevantes. Os resultados demonstram que a espectroscopia de reflectância dá-nos uma avaliação rápida das características do leite de cabra em vários cenários de produção, sendo um excelente sensor para a monitorização e automatização do processamento de lacticínios, em especial para o desenvolvimento da monitorização e controlo com a utilização de software de Tecnometria.

1 Introdução.

O leite de cabra é uma complexa emulsão de gordura em solução aquosa, contendo gordura, lactose, proteínas e minerais. A composição do leite é afectada pela raça da cabra, região e condições sanitárias (pastorícia ou cativoiro), características de alimentação, condições de saúde, condições sazonais de ordenha.

A maior variabilidade é observada no perfil dos ácidos gordos livres e na concentração das proteínas (caseínas e proteínas do soro). Aparentemente, a lactose e outros constituintes menores são menos afectados pelas variações biológicas e sazonais (Jandall, 1996). Além das variações inerentes à produção leiteira, o leite sofre variações durante o seu processamento.

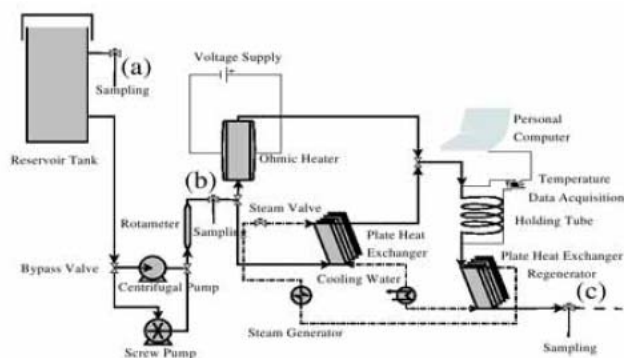
A pasteurização é conhecida por desnaturar as proteínas do soro (lactoalbuminas e lactoglobulinas), que coagulam em minúsculas partículas. Tal desnaturação, afecta a cor do leite e aumenta a capacidade para reflectir todo o espectro do visível. Até hoje, as interações dos ácidos gordos e das proteínas no leite, durante o processamento térmico, não foram completamente descritas (Vasbinder 2002).

A pasteurização também aumenta a reacção de Maillard, e consequentemente os compostos carbonílicos ou aldeídos insaturados, α,β resultantes, podem conjugar-se com os grupos carbonílicos das proteínas, levando consequentemente a alterações de sabor e cor. Também os radicais livres produzidos por catalizadores metálicos podem conduzir a formação de aminoácidos carboidratados, sendo o grupo carbonilo um indicador da oxidação das proteínas do leite, o que mais tarde afecta a produção e qualidade sensorial dos produtos lácteos.

Além disso, ainda se desconhece de que forma os micelos de gordura são afectados durante a pasteurização e o aquecimento Ohmico, e se estes interagem na fase coloidal da caseína. Como as alterações físico-químicas do leite de cabra durante a pasteurização e o aquecimento Ohmico são altamente complexas, deve optar-se por uma estratégia técnica (multivariada e fusão de dados) de monitorização e controlo. Dadas as circunstâncias, o equipamento multivariado on-line ou em tempo real, tais como espectrofotómetros podem ser uma mais valia no diagnóstico e controlo do processamento.

A espectroscopia UV-VIS não tem sido tão utilizada para analisar a composição do leite como o NIR e MIR. No entanto, as propriedades físicas do espectro UV-VIS-SWNIR das moléculas orgânicas fornecem um grande potencial na monitorização das alterações físico químicas do leite descritas na bibliografia durante o processamento e o armazenamento. Estes já foram em parte explorados na região NIR/MIR, sendo contudo as suas aplicações maioritariamente laboratoriais. Consequentemente esta investigação pretende determinar a eficácia do UV-VIS-SWNIR como técnica de monitorização do controlo da pasteurização e aquecimento ohmico através de tecnometria. No nosso estudo, através da espectroscopia, registam-se os efeitos em: i) bombas; ii) permutador de calor; iii) severidade do tratamento do aquecimento Ohmico, e iv) o armazenamento refrigerado.

Figura 1. Instalação piloto de pasteurização e aquecimento ohmico: (a), (b) e (c) são pontos de recolha de amostras, respectivamente



2 Materiais e Métodos

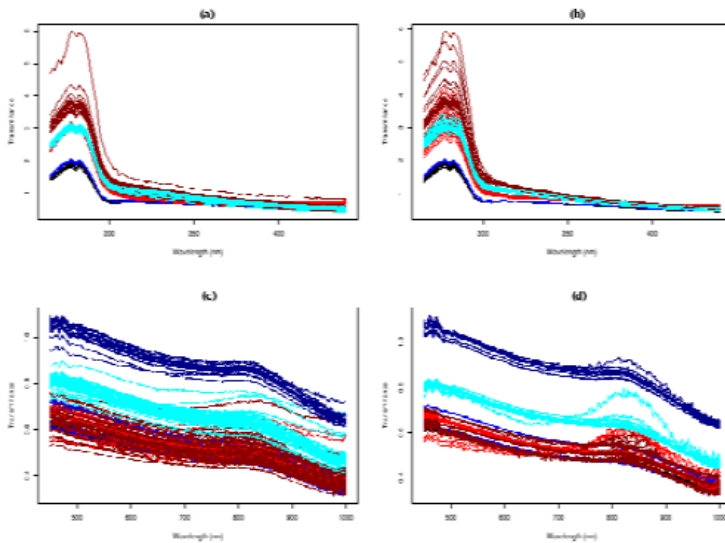
2.1 Amostras. As amostras do leite de cabra foram recolhidas no dia da entrega na unidade local de processamento diária e processadas no laboratório piloto, sendo previamente homogeneizadas. Para cada batch recebido o leite de cabra diferentes amostras foram processadas no laboratório piloto (Figura 1): i) sem tratamento (leite cru controlado no local de amostragem); ii) passagem através de bombas centrífugas (amostra para registrar os efeitos da bomba no local da amostragem); iii) pasteurização (15s , 75°C)/prato de permutador de calor e processamento Ohmico (15s , 75°C)/prato de permutador de calor. Para cada local amostragem e fases de processamento, cinco replicações das amostras foram obtidas para análise espectroscópica.

2.2 Espectroscopia. Os espectros são recolhidos por sensor de fibra óptica em comprimentos de onda UV-VIS e UV-SWNIR ($200\text{-}400\text{nm}$ e $400\text{-}1200\text{nm}$, respectivamente). As amostras foram realizadas a uma temperatura de $(18 \pm 2.0^\circ\text{C})$ e a foi sempre verificado a formação de resíduos de gordura no sistema evanescente. Os tempos de retenção foram programados para 25s e 4s para a recolha de espectros UV-VIS e VIS-NIR, respectivamente.

2.4 Análise de dados. O espectro recolhido foi processado utilizando a decomposição de valores singulares, sendo utilizadas as componentes principais para classificar e diferenciar a combinação de factores que afectam a qualidade do leite de cabra após a normalização e correcção robusta da difracção dos espectros originais, sendo apresentados em transmitância. Os números de signi-

ficância dos componentes principais foram obtidos através de randomização (Krzanowski, 1998). Todos os dados foram processados no software de tecnometria OpenPAT (OpenPAT, 2006).

Figura 2. Correção dos espectros UV-VIS e VIS-SWNIR de leite de cabra: (a) UV-VIS; (b) UV-VIS corrigido; (c) VIS-SWNIR; (d) VIS-SWNIR corrigido.



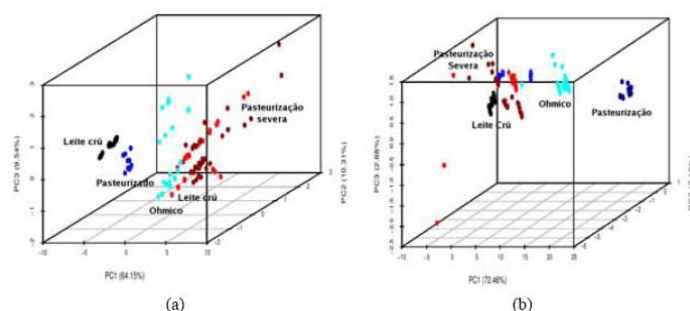
3 Resultados e discussão

3.1 Pré-processamento e avaliação descritiva. A correção robusta da dispersão espectro foi capaz de remover produtos de dispersão do espectro UV-VIS-SWNIR. Também foi mostrado que este espectro tinha alta variância nos comprimentos de onda 260-320nm. Esta região é dada por n- π transições electrónicas (grupo carbonilo) que reflecte maior diferenças maiores não apenas na composição de ácidos gordos no leite bem como proteínas, significância “holding” e informação valiosa para a monitorização da qualidade do leite de cabra durante o processo de armazenagem.

Além disso o espectro mostrou que os diferentes batches de leite de cabra apresentam diferenças significativas na quantidade de ácidos gordos totais na observação da variação de transmitância na região observada, como o leite foi obtido de Setembro para Dezembro 2007, sendo a quantidade de gordura mais alta nesta época do ano (Gomes et al. 2004). Uma análise qualitativa directa do espectro não revela se as proteínas do leite na região UV sofreram qualquer mudança para o vermelho ou azul.

Na região VIS-NIR, a maior variação foi observada em todo o espectro desde 450 aos 1000nm. Nesta região ambos os absorvem os cromatóforos, carbonilos, bem como N-H, C-H e O-H na SWNIR, provando a grande variabilidade do leite de cabra perante as condições severas de processamento. Além disso, o espectro do leite depois de apresenta maior transmitância, devido à coagulação das proteínas do soro. Um pequena devio para o vermelho é igualmente observado com o processamento Ohmico (Vasbinder 2002).

Figura 3. Três primeiras decomposições singulares do espectro corrigido: (a) UV-VIS e (b) VIS-SWNIR.



3.2 Análise da decomposição do espectro. A maioria da variância UV-VIS foi apanhada nas três primeiras decomposições PC1 (64.15%), PC2 (10.31%) e PC3 (9.45%) sendo 84.00% da variância no espectro. A análise PCA apresenta claras diferenças entre o leite cru, passado pelas diferentes bombas, pasteurização simples ou dupla, ou ainda sujeito a aquecimento Ohmico conduz a espectros diferentes da pasteurização.

Além disso, diferenças significativas foram também observadas nos espectros durante o armazenamento +5°C por três dias, quando comparado o leite cru, assegurando talvez a actividade microbiológica, bioquímica e química de ambos durante a armazenagem. As maiores partes da variância no VIS-NIR foram capturadas nos primeiros 3PC's PC1 72.46% PC2 7.13% e PC3 2.88%, totalizando 82.47% da variância observada.



4. Conclusão

Este estudo preliminar permite-nos concluir que: i) existe grande vantagem em corrigir os efeitos da dispersão; ii) os resultados mostram que a espectroscopia UV-VIS (230-420nm) e VIS-SWNIR (450-1000nm) podem ser usadas para caracterizar diferentes amostras de leite de cabra e registar diferentes relevantes na composição do leite e propriedades físicas dos efeitos de dispersão; e iii) este estudo preliminar está a seu sujeito de a tratamentos estatísticos na tentativa de desenvolver sistemas on-line que permitem controlar a qualidade do leite de cabra durante a pasteurização e aquecimento Ohmico.



5. Referências Bibliográficas

- Jandall, J.M. 1996. Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 22: 177–185.
- Vasbinder, A.J. 2002. Casein-whey protein interactions in heated milk. PhD thesis, Universiteit Utrecht, The Netherlands.
- Krzanowski, W.J. 1998. Principles of Multivariate Analysis. Oxford University Press, Oxford England.
- Gomes, V., Libera, A.M., Madureira, K.M., Araujo, W.P. 2004. Influence of lactation stage on goat (*Capra hircus*) milk composition. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 4: ~339–342.
- OpenPAT. 2006. OpenPAT: The Open Source Process Analytical Technometrics Software. In: *Techmetrics – Industrial Data Analysis WorkShop*, Penafiel – Portugal.

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GORDOS LIVRES DURANTE A PASTEURIZAÇÃO CONVENCIONAL E ÔHMICA

PEREIRA, R.N.A, MARTINS, R.C., TEIXEIRA, J.A. E VICENTE, A.A.

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA E BIOENGENHARIA, CENTRO DE ENGENHARIA BIOLÓGICA, UNIVERSIDADE DO MINHO

rpereira@deb.uminho.pt

INTRODUÇÃO

Desde a introdução dos sistemas automáticos de ordenha que se tem vindo assistir ao aumento da concentração de ácidos gordos livres (AGL) no leite cru. Os procedimentos relacionados com a ordenha, assim como a sua frequência e os tratamentos mecânicos a que posteriormente o leite é sujeito, como por exemplo, o bombeamento, a agitação e homogeneização, têm vindo a ser apontados como principais responsáveis pelo o aumento dos AGL. Estes tratamentos mecânicos danificam a estrutura da membrana que protege os glóbulos de gordura do leite, expondo os triglicérides à degradação enzimática por intermédio de lipases (lipólise).

Por sua vez, a hidrólise dos triglicérides resulta na libertação e consequente acumulação de AGL no leite. Os AGL quando devidamente balanceados com produtos resultantes das reacções de proteólise (degradação enzimática das proteínas) ou quando, de forma indirecta, servem como percursores de compostos voláteis, contribuem para o sabor e odor típico de alguns queijos. No entanto, o aumento excessivo da concentração de AGL no leite, sobretudo dos ácidos com cadeia de carbono curta (do C2:0 ao C6:0), está igualmente associado ao aparecimento de sabores e odores desagradáveis com consequências nefastas para a qualidade tecnológica do leite e dos produtos com ele confeccionados.

Cerca de 60 % a 70 % da concentração de AGL no leite tem origem durante a ordenha e o transporte do leite para o tanque de refrigeração. No entanto, durante o tratamento térmico do leite ocorrem mudanças significativas na composição física e química dos lípidos, especialmente na membrana dos glóbulos de gordura que pode eventualmente ser destruída pela combinação dos choques térmicos e físicos. O tratamento térmico acima dos 70 °C afecta a aglomeração dos glóbulos de gordura, promovendo fenómenos de coalescência e desnaturando as proteínas que constituem a membrana dos glóbulos facilitando a interacção entre proteínas e outros componentes da membrana.

Normalmente, a pasteurização de leite que precede o fabrico de queijo realiza-se por intermédio de permutadores de placas, que estão frequentemente associados à acumulação de sólidos à superfície das placas reduzindo significativamente a eficiência na transferência de calor e aumentando a queda de pressão ao longo do equipamento. Por outro lado, o aquecimento ôhmico afigura-se como uma tecnologia emergente para a pasteurização do leite, uma vez que permite aquecer rapidamente e uniformemente os materiais que lhe são submetidos, podendo ser considerado um processo HTST (High Temperature Short Time).

No caso do leite, a principal vantagem do aquecimento ôhmico será o formato do sistema de aquecimento: trata-se simplesmente de uma tubagem que, numa parte do seu percurso, possui um par de eléctrodos aplicados em posições opostas cuja função é aplicar o campo eléctrico ao alimento que entre eles passa, de forma uniforme. Isto contrasta fortemente com o percurso sinuoso do leite num permutador de placas que pode provocar um maior stress mecânico. No entanto, praticamente não se conhecem trabalhos sobre os efeitos que a pasteurização ôhmica poderá ter no perfil de AGL, e consequentemente, na qualidade tecnológica do leite.

Em comparação com o leite de vaca, o leite de cabra apresenta menor estabilidade térmica, concentrações elevadas de ácidos gordos (AG) de cadeia curta e glóbulos de gordura de tamanho reduzido, envolvidos por uma membrana mais frágil. Estes factores podem contribuir para uma maior acumulação de AGL no leite durante o seu processamento, aumentando dessa forma o risco

de oxidação e formação de sabores e odores desagradáveis. Neste contexto, com este trabalho pretendeu-se verificar qual o efeito que o processamento tem sobre a estabilidade da fracção lipídica do leite de cabra, nomeadamente no perfil de AGL de cadeia curta (ácido butírico, C4:0; e ácido capríco, C6:0) e de cadeia média (ácido caprílico, C8:0; e ácido cáprico, C10:0) em: i) leite de cabra cru sem tratamento; ii) leite de cabra cru submetido a passagem por diferentes tipos de bombas e sistemas de pasteurização (permutador de placas e aquecedor ôhmico) sem tratamento térmico; iii) leite de cabra pasteurizado pelo permutador de placas e aquecedor ôhmico.

METODOLOGIA

Utilizaram-se quatro amostras (A, B, C e D) de 60 litros de leite de cabra das raças "Saanen" e "Serrana", que foram recolhidas numa unidade de fabrico de queijo de cabra, localizada na Região do Minho (Portugal). Para a extracção e quantificação individual de AGL do leite foram utilizadas as técnicas de micro-extracção em fase sólida (SPME, solid-phase micro-extraction) e cromatografia gasosa. Efectuaram-se calibrações individuais para os AGL de cadeia curta e média através da adição prévia de padrões de AGL nas amostras de leite, assim como para as fibras de SPME utilizadas durante as extracções.

As calibrações demonstraram ser reprodutíveis e lineares num intervalo de concentrações situado entre os 5 e 40 mg/l. As amostras de leite cru foram posteriormente submetidas a diferentes tratamentos; o leite cru foi bombeado alternadamente por intermédio de uma bomba centrífuga (operando uma rotação de 2960 rpm) e uma bomba de parafuso (operando a uma rotação de 20 rpm), de forma a debitem um caudal semelhante; as pasteurizações ôhmica e convencional foram realizadas alternadamente e de forma contínua num aquecedor ôhmico e num sistema de permutador de placas, respectivamente, à temperatura de 72.5 °C durante 15 segundos. Os resultados obtidos trataram-se estatisticamente por técnicas de análise multivariada através da análise de componentes principais (PCA, principal component analysis) e análise hierárquica de clusters (HCA, hierarchical cluster analysis).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de leite cru recolhidas entre os meses de Setembro e Dezembro de 2006 apresentaram uma concentração média total de AGL de cadeia curta e média de 66.82 ± 27.18 mg/l, tendo-se registado um valor máximo de 142.72 mg/l (em Outubro) e mínimo de 38.29 mg/l (em Novembro). O AGL mais representativo foi o ácido cáprico contabilizando mais de 30 % do total de AGL quantificados (Figura 1).

A análise de componentes principais (PCA) aplicada às composições percentuais dos AGL quantificados, revelou que mais de 80 % (componente principal 1) da variabilidade observada nos resultados corresponde às diferenças de concentrações entre o ácido cáprico livre (o mais representativo de todos os AGL quantificados) e, essencialmente, os AGL de cadeia curta (butírico e capríco) (Figura 2).

Estes resultados demonstram que, em termos percentuais, os conteúdos de AGL de cadeia curta (ácidos butírico e capríco) e cadeia média (ácidos caprílico e cáprico) estão inversamente correlacionados no leite de cabra. Estas correlações estão de acordo com as já observadas em estudos anteriores para os AG de leite de cabra (Chilliard et al. 2003, Chilliard & Ferlay 2004) e resultam fundamentalmente das diferentes vias metabólicas e fluxos de nutrientes envolvidos na síntese de lípidos; quando disponibilidade

de AG de cadeia longa aumenta, a secreção corporal de AG de cadeia média diminui, o que resulta numa diminuição da sua concentração, diminuição essa mais acentuada devido ao efeito de diluição promovido pela maior presença de AG de cadeia longa (Chilliard & Ferlay 2004). Ao contrário dos AG de cadeia média, a concentração dos AG de cadeia curta não é tão afectada pelo aumento de suplementos lipídicos, que se podem verificar durante a dieta ou mobilização de lípidos.

Figura 1. Composição percentual (%) dos AGL presentes em leite de cabra cru sem tratamento: (C4) ácido butírico; (C6) ácido capríco; (C8) ácido caprílico; e (C10) ácido cáprico.

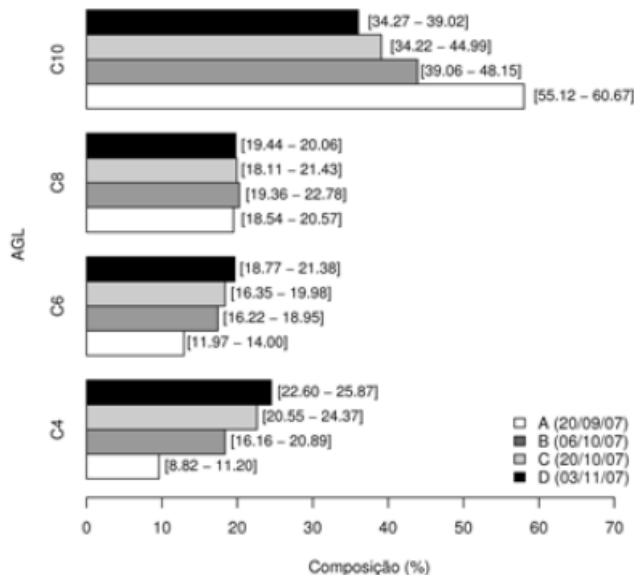
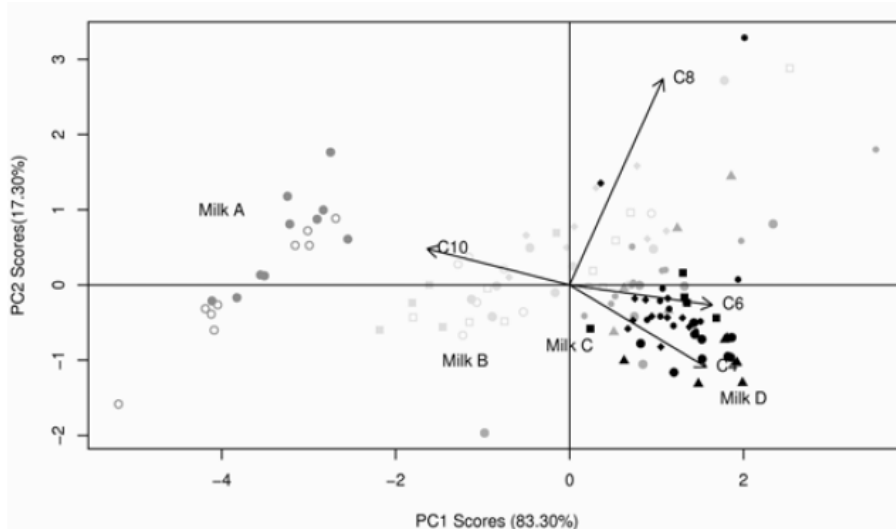


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) aplicada à composição percentual dos AGL quantificados nas amostras de leite A (—), B (—), C (—) e D (—): (●) sem tratamento; (○) bomba centrífuga; (□) bomba parafuso; (■) passagem pelo permutador de placas sem aquecimento; (♦) pasteurização no permutador de placas; (▲) passagem no aquecedor óhmico sem aquecimento; (●) pasteurização no aquecedor óhmico.



A análise hierárquica de clusters (HCA) evidenciou ainda que os tratamentos estudados não foram os principais responsáveis pela variabilidade encontrada nos perfis de AGL. Em particular, as bombas (nas condições de operação utilizadas) não promoveram aumentos significativos na concentração de AGL.

Seria de esperar que o bombeamento do leite pela bomba centrífuga, a operar a 2960 rpm, pudesse provocar alterações nas concentrações de AGL, uma vez que estudos prévios realizados em leite de vaca relatam um aumento da concentração de AGL após bombeamento, realizado num intervalo de rotações compreendido entre as 1750 e 3500 rpm (Escobar & Bradley 1990).

O facto de o leite ter sido refrigerado (5 °C) antes de ser bombeado pode ter evitado a acumulação de AGL; efectivamente, a baixas temperaturas os glóbulos de gordura parecem apresentar uma maior resistência ao stress mecânico (Wiking 2005). De igual forma a pasteurização óhmica a 72.5 °C durante 15 segundos não promoveu modificações acentuadas nos conteúdos de AGL, quando comparada com a pasteurização convencional.

O efeito adicional do campo eléctrico, combinado com o efeito térmico, na pasteurização óhmica não influenciou a composição percentual de AGL no leite de cabra de uma forma estatisticamente significativa. Estes resultados indicam que a pasteurização óhmica poderá ser introduzida no processo de pasteurização de leite de cabra sem afectar negativamente a sua qualidade organoléptica.

CONCLUSÕES

A combinação das técnicas analíticas de SPME e cromatografia gasosa resultaram num método com boa reprodutibilidade para a quantificação de AGL de cadeia curta e média em leite de cabra. A correlação inversa entre os AGL de cadeia curta e média evidenciada nos resultados indicam que um leite de cabra, ainda que apresentando um menor teor de gordura, poderá ser rico em AGL de cadeia curta e assim demonstrar a mesma apetência para o desenvolvimento do sabor a ranço.

De uma forma geral, a variabilidade das composições percentuais observada nas amostras de leite cru, que foram analisadas sem serem sujeitas a qualquer tipo de tratamento, foi superior à variabilidade introduzida pelos tratamentos estudados experimentalmente.

Factores relacionados com o estado de fisiológico, o estado de lactação e a dieta dos animais poderão justificar as variações observadas nos valores percentuais de AGL, em particular nos valores de ácido cáprico. Dessa forma a monitorização da composição de AGL antes das diferentes etapas de processamento poderá representar um avanço significativo na avaliação da qualidade do leite.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J. & Lamberet, G. (2003), 'A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis', *Journal of Dairy Science* 86, 1751-1770.
- Chilliard, Y. & Ferlay, A. (2004), 'Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties', *Reproduction Nutrition and Development* 44, 467-492.
- Escobar, G. J. & Bradley, R. (1990), 'Effect of mechanical treatment on the free fatty acids content of raw milk.', *Journal of Dairy Science* 73, 2050-2060.
- Wiking, L. (2005), *Special Reference to Automatic Milking Systems*, PhD thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.

BREVES

ESTUDO RELACIONA CÁLCIO COM MENOR RISCO DE CANCRO NO CÓLON

A alta ingestão de vitamina D e cálcio a partir de alimentos ou de suplementos pode reduzir o risco de cancro cólon-rectal em mais de 30%, sugere um novo estudo da Universidade do Havaí. Vários estudos reportaram efeitos protectores de alimentos lácteos ricos em cálcio para o cancro cólon-rectal, uma tipologia que é responsável por 9 por cento de todos os novos casos de cancro e que mata meio milhão de pessoas todo os anos a nível mundial.

"As nossas descobertas apoiam a hipótese de um papel protector do cálcio no risco do cancro cólon-rectal tanto nos homens como nas mulheres, bem como um papel protector da ingestão de vitamina D, leite e produtos lácteos em homens e mulheres que não usaram suplementos de cálcio", escreveu o principal autor da investigação, Song-yi Park. O novo estudo, publicado na última edição do American Journal of Epidemiology, não somente apoia a observação de que o cálcio e os produtos lácteos protegem contra o cancro cólon-rectal, mas também que a vitamina D pode ter um efeito protector, particularmente nos homens.

O Estudo de Corte Multiétnico feito no Havaí e em Los Angeles recrutou 85.903 homens e 105.108 mulheres (com idade média de 60 anos) e calculou o influxo nutricional a partir da dieta e de suplementos usando um questionário de frequência de alimentos com mais de 180 itens. Durante o período de acompanhamento do estudo, de 7,3 anos, 2.110 casos incidentes de cancro cólon-rectal foram documentados, sendo 1.138 em homens e 972 em mulheres. Após ajustar os resultados para potenciais factores que podem confundir a avaliação, como a idade, hábito de fumar, IMC, ingestão de fibras, Song-yi Park e os seus colaboradores dividiram a ingestão de cálcio e vitamina D em cinco grupos.

Os investigadores reportaram que a maior ingestão (de pelo menos 611 mg por 1000 calorias por dia) de cálcio total (de alimentos e de suplementos) esteve associada com uma redução de entre 30 e 36% no risco de cancro cólon-rectal em homens e mulheres, respectivamente. Isso comparado com a menor ingestão (menos de 288 mg por 1000 calorias por dia). Um efeito protector também foi observado para a ingestão total de vitamina D, mas apenas para os homens. Uma ingestão média de pelo menos 276 unidades internacionais (IU) por 1000 calorias por dia esteve associada com uma redução de 28% no risco, comparado com uma ingestão diária de menos de 39 IU por 1000 calorias por dia. Os produtos lácteos também mostraram um efeito protector, com a redução associada do risco de 23 e 34% para homens e mulheres com ingestões de mais de 161 gramas por 1000 calorias por dia que não usaram suplemento de cálcio.

O estudo, refere a notícia do site Nutraingredients/MilkPoint tem algumas limitações, particularmente relacionadas com as medições de vitamina D, que é feita pelo corpo através da exposição à luz solar, e essa exposição não foi considerada no início do estudo. Além disso, uma proporção maior de mulheres do que homens admitiram tomar suplementos de cálcio, muitos deles contendo vitamina D, o que também não foi levado em consideração.

BIO-REACTOR PARA REDUÇÃO DO COLESTEROL DO LEITE

Investigadores do Conselho Nacional de Pesquisas Científicas e Técnicas (CONICET) da Argentina e o Laboratório de Desenvolvimento e Pesquisas Aplicadas da Medipharma, de La Plata, desenvolveram um sistema que elimina 75% do colesterol do leite, sem modificar o seu sabor nem o seu odor. A equipa de investigação conseguiu desenvolver um modelo de bio-reactor destinado a eliminar o colesterol do leite.

O sistema, que processa grandes volumes de líquido em poucas horas, foi especialmente projectado para tratar o leite e também cultivar células de *Tetrahymena thermophila*, um microrganismo inócuo que fagocita os glóbulos de gordura sem coagular nem gerar odor desagradável. "Escolhemos trabalhar com a *Tetrahymena thermophila* porque é um microrganismo não patogénico e de rápido crescimento, que possui a notável capacidade de ingerir o colesterol presente no alimento e transformá-lo em pró-vitamina D, ajudando por sua vez a produzir ácidos gordos polinsaturados que são essenciais para a nutrição humana", disseram os autores da pesquisa, que foi publicada na revista especializada *Applied Microbiology and Biotechnology*.

"A originalidade de nosso bio-reactor está na sua capacidade de combinar o cultivo do microrganismo com o tratamento simultâneo do leite no mesmo equipamento", disseram os investigadores. Desta forma, a abundante massa celular que se obtém ao centrifugar o leite fica enriquecida com compostos de interesse biotecnológico, como a pró-vitamina D, os ácidos gordos polinsaturados, fosfolipídios e coenzimas Q8. O produto final - o leite sem colesterol - por seu lado, conserva pouco mais de 5 por cento das células de *Tetrahymena thermophila* utilizadas no tratamento, que são as que fornecem ao alimento a pró-vitamina D e os ácidos gordos polinsaturados.

O processo, refere a notícia do site Infocampo/MilkPoint está em vias de ser patenteado, mas faltam ainda concluir algumas etapas para que o sistema possa ser comercializado. O custo do equipamento será determinado quando for produzido à escala industrial, mas a ideia é de que não seja muito diferente do equipamento usado no processo de fabricação de iogurte.

CONSUMO DE LEITE AJUDA A DEIXAR DE FUMAR

A edição de Abril da revista *Nicotine and Tobacco Research* - jornal oficial da Society for Research on Nicotine and Tobacco - apresenta um estudo que mostra que o consumo de leite ajuda as pessoas que querem deixar de fumar. A base do estudo foi a análise do efeito que vários alimentos têm no sabor dos produtos de tabaco, especialmente cigarros.

O estudo refere que a ideia era explorar os efeitos de alteração de sabor de alimentos e bebidas na palatabilidade do cigarro. O principal responsável pelo estudo, Joseph McClernon do Duke Center for Nicotine and Smoking Cessation Research, disse que com poucas modificações na dieta, como consumir mais alimentos que tornam mau o sabor do cigarro, caso do leite, e menos alimentos que melhoram o sabor do cigarro, como a cerveja, os fumadores podem deixar de fumar de forma mais fácil.

O estudo avaliou 209 fumadores e pediu a eles que nomeassem os itens que pioravam ou melhoravam o sabor do cigarro. Dezanove por cento deles reportou que os produtos lácteos, como o leite ou os queijos, pioram o sabor do cigarro; 14% reportaram que bebidas não cafeïnadas como os sumos e a água têm igualmente este efeito; e 16% reportaram o efeito em frutas e vegetais. Por outro lado, 44% delas reportaram que bebidas alcoólicas melhoraram o sabor do cigarro; 45% disseram que bebidas cafeïnadas, como chás, cola e café, têm também esse efeito e 11% citaram as carnes como alimentos que melhoram o sabor do cigarro.

Outro investigador que participou no estudo, Jed E. Rose, disse que a identificação de quais os componentes desses alimentos e bebidas que pioram o sabor do cigarro pode levar a novos tratamentos para desestimular o fumo. Este foi o primeiro estudo que associou os efeitos de vários alimentos directamente com o fumo.

ANIL - ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS INDUSTRIAIS DE LACTICÍNIOS

Rua de Santa Teresa, n.º 2 C - 2.º
4050-537 Porto
Telefone: + 351 22 200 12 29
Telefax: + 351 22 205 64 50
E-mail: anilca@mail.telepac.pt
Website: www.anilact.pt

