

XXV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

Juiz de Fora, MG – 5 de março de 2020

Avaliação do impacto de conservantes no leite no tamanho de micelas de caseína.

Isabella Bitencourt Guimarães²; Danielle dos Santos Cinelli Pinto³; Geovana de Carvalho Onorato³; Jaqueline de Almeida Celestino³; Patrícia Vilhena Dias de Andrade⁴; Michelle Daiane de Almeida Loures⁷; Guilherme Nunes de Souza⁴; Juliana Carine Gern⁴; Humberto de Mello Brandão^{4,5}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; FAPEMIG – Fundação de Apoio à Pesquisa de Minas Gerais. Parte do projeto “Rede Agronano”, liderado por Humberto de Mello Brandão.

²Bolsista PIBIC CNPq. e-mail: citguimaraes@gmail.com

³Bolsista da Embrapa Gado de Leite: e-mail: daniellecinep@gmail.com; geovana.onorato@gmail.com; jaquedesco97@hotmail.com
⁴Pesquisador - Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mail: andrade.pvd@gmail.com; humberto.brandao@embrapa.br; guilherme.souza@embrapa.br; juliana.gern@embrapa.br

⁵Analista - Embrapa Gado de Leite. e-mail: michelle.loures@embrapa.br

⁵Orientador

Resumo: As caseínas compreendem cerca de 80% das proteínas presentes no leite. Além disso elas são um dos componentes mais importantes para as suas características organolépticas, bem como no seu rendimento industrial. No entanto, alguns fatores afetam a estrutura dessa proteína, e com isso modificam as características reológicas dos derivados lácteos. Dada estas importâncias, estimar o tamanho médio da caseína em amostras de leite é amplamente aplicável para determinar as características sensoriais do leite, seu rendimento industrial ou mesmo as características reológicas dos derivados. Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a interferência dos conservantes Adiziol e Bronopol na estocagem do leite. **Material e Métodos:** Cinquenta e três amostras de leite foram coletadas em tanque expansão, alicotadas em frascos de 50mL sem conservante e com conservantes Azidol e Bronopol, perfazendo um total de 159 amostras. Todas as amostras foram desengorduradas por centrifugação a 2000 x g/30 min, 5°C, com subsequente remoção da camada de gordura de cada amostra. O diâmetro médio das micelas de caseína foi determinado por espalhamento dinâmico de luz- DLS. A determinação do tamanho de micela de caseína foi realizada durante 4 dias consecutivos. **Resultados e Discussão:** A micela de caseína é essencial no processamento do leite e de seus derivados. Os conservantes Azidol e bronopol são usados em laboratórios de controle da qualidade do leite para evitar que ocorram alterações no leite, e por consequência no tamanho da caseína. Foi observado o aumento significativo do diâmetro médio da micela no dia 4 ($P < 0,05$), o que sugere a ocorrência de crescimento bacteriano e por consequência clivagem da κ -caseína por proteases, levando a agregação das micelas, pela redução do efeito do conservante. **Conclusões:** Os dados foram promissores para avaliar o impacto dos conservantes no tamanho das moléculas de caseína do leite.

Palavras-chave: caseína, micela, proteínas do leite

Evaluation of the impact of preservatives in milk on the size of casein cells.

Abstract: Caseins comprise about 80% of the proteins present in milk. In addition, they are one of the most important components for their organoleptic characteristics, as well as their industrial performance. However, some factors affect the structure of this protein, and thereby modify the rheological characteristics of dairy products. Given these importance, estimating the average size of

XXV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

Juiz de Fora, MG – 5 de março de 2020

casein in milk samples is widely applicable to determine the sensory characteristics of milk, its industrial yield or even the rheological characteristics of the derivatives. In this context, the objective of this work was to evaluate the interference of preservatives Azidol and Bronopol in the storage of milk. **Material and Methods:** Fifty-three milk samples were collected in an expansion tank, plated in 50mL bottles without preservative and with Azidol and Bronopol preservatives, making a total of 159 samples. All samples were degreased by centrifugation at $2000 \times g$ / 30 min, 5 ° C, with subsequent removal of the fat layer from each sample. The average diameter of the casein micelles was determined by dynamic light scattering - DLS. The determination of the casein micelle size was performed for 4 consecutive days. **Results and Discussion:** The casein micelle is essential in the processing of milk and its derivatives. The preservatives Azidol and bronopol are used in milk quality control laboratories to prevent changes in the milk, and consequently in the size of the casein. A significant increase in the mean diameter of the micelle was observed on day 4 ($P < 0.05$), which suggests the occurrence of bacterial growth and consequently cleavage of κ -casein by proteases, leading to the aggregation of the micelles, by reducing the effect of the preservative. **Conclusions:** The data were promising to assess the impact of preservatives on the size of milk casein molecules.

Keywords: casein, micelle, milk proteins

Introdução

As caseínas são as principais proteínas do leite, respondendo por 80% das proteínas totais. Compreende um dos componentes mais importantes para suas características organolépticas e de rendimento industrial (BRASIL et al., 2015). Estas proteínas encontram-se arranjadas espacialmente em estruturas micelares, as quais podem variar de tamanho em função de fatores genéticos, fisiológicos e ambientais (Fox e Brodtkorb, 2008). De uma forma geral, o tamanho da micela de caseína está intimamente relacionado com sua capacidade adsorviva sobre as papilas gustativas e intensidade de interação entre si durante o processo de coagulação do leite. Dada a estas importâncias, estimar o tamanho médio da caseína em amostras de leite é amplamente aplicável para determinar as características sensoriais do leite, seu rendimento industrial ou mesmo tentar prever as características reológicas de derivados lácteos. Dentre esse contexto, o presente trabalho avaliou a interferência dos conservantes Azidol e Bronopol na estocagem do leite para análise do tamanho da micela de caseína.

Materiais e Métodos

Cinquenta e três amostras de leite foram coletadas em tanque expansão, alicotadas em frascos de 50mL sem conservante e com conservantes Azidol e Bronopol, perfazendo um total de 159 amostras. O transporte do leite até o laboratório e a estocagem das amostras foi realizado em ambiente refrigerado de 5°C. Todas as amostras foram desengorduradas por centrifugação a $2000 \times g$ /30 min, 5°C, com subsequente remoção da camada de gordura de cada amostra. O diâmetro médio das micelas de caseína foi determinado de acordo com Devold et al., (2000) por espalhamento dinâmico de luz em tampão *simulated milk ultrafiltrate*-SMUF na concentração 1:1000 leite/SMUF (Jenness e Koops, 1962). A solução SMUF foi previamente filtrada em filtro de seringa de 0,2µm. A determinação do tamanho de micela de caseína foi realizada em um aparelho

XXV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

Juiz de Fora, MG – 5 de março de 2020

ZetaSizer NanoZs (Malvern Instruments Ltd.), durante 4 dias consecutivos. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas e a análise estatística foi realizada com auxílio do software R. Core Team (2019).

Resultados e Discussão

A micela de caseína é essencial no processamento do leite e de seus derivados. Estas micelas são os principais componentes da estrutura matricial do coágulo de leite. O uso de conservantes para evitar que haja alteração no leite, e por consequência na estrutura das micelas, é feito de forma rotineira na análise de leite pela indústria (Meyer et al., 2003). De acordo com as análises realizadas, o uso dos conservantes supracitados não interferem no diâmetro médio das caseínas, todavia, após 72 horas de avaliação, identificou-se um aumento significativo do diâmetro médio das micelas de caseína em ambos os tratamentos (*i.e.* azidiol e bronopol) ($P < 0,05$). Essa alteração, possivelmente, é decorrente da redução da atividade bacteriostática de ambos os conservantes, promovendo queda de pH e ação de proteases na camada mais externa da micela, rica em κ -caseína. Tal condição favorece a agregação das micelas, resultando em aumento médio do diâmetro de caseína (figura 1) (O'Connell et al., 2006).

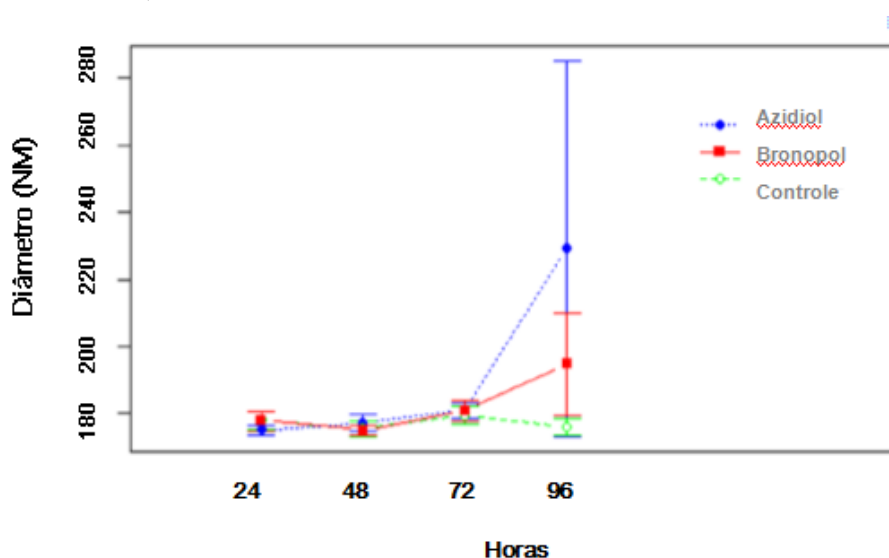


Figura 1: Gráfico diâmetro médio de caseína, correlacionado aos dias.

Conclusões

O uso dos conservantes Azidiol e Bronopol, não alteram o tamanho da micela de caseína ao longo de 72 horas. Fato este que torna a técnica aplicável em amostras de leite na rotina da Rede de Laboratórios de Qualidade do Leite (RBQL) em condições específicas, haja vista que a recepção de amostras podem ser realizadas em até 96 horas.

XXV Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

Juiz de Fora, MG – 5 de março de 2020

Referências

BRASIL, Rafaella Belchior et al. Estrutura e estabilidade das micelas de caseína do leite bovino. **Ciência Animal** 25 (2): 71-80, 2015.

DEVOLD, Tove Gulbrandsen et al. Size of native and heated casein micelles, content of protein and minerals in milk from Norwegian Red Cattle—effect of milk protein polymorphism and different feeding regimes. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 5-6, p. 313-323, 2000.

FOX, P. F.; BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 677-684, 2008.1

GLANTZ, Maria et al. Importance of casein micelle size and milk composition for milk gelation. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1444-1451, 2010.

JENNESS, Robert. Preparation and properties of a salt solution which simulates milk ultrafiltrate. **Neth. Milk Dairy J.**, v. 16, p. 153-164, 1962.

MEYER, Paula Marques. Fatores não nutricionais que afetam as concentrações de nitrogênio uréico no leite. **Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, 2003.

O'CONNELL, John E. et al. Influence of ethanol on the rennet-induced coagulation of milk. **Journal of dairy research**, v. 73, n. 3, p. 312-317, 2006.