

Avaliação do método QuEChERS com etapa de limpeza a baixa temperatura para extração de HMF em leite e doce de leite.

Lucas L. Mello (IC)*, Bruno M. Soares (PG), Liziara Cabrera (PQ), Ednei Gilberto Primel (PQ).
lucasleitesmello@hotmail.com

Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais – LACOM – Universidade Federal do Rio Grande – FURG – Escola de Química e Alimentos – Avenida Itália Km 8 – Rio Grande – RS.

Palavras Chave: Leite, HMF, QuEChERS.

Introdução

O leite e seus derivados são alimentos importantes na dieta diária da população de vários países, sendo consumido por todas as faixas etárias, principalmente por crianças, o que torna maior a preocupação com relação à sua qualidade. Alguns alimentos, quando submetidos a tratamentos térmicos podem sofrer alterações, como a reação de Maillard, que ocorre entre um açúcar redutor e um grupamento amino, podendo ser desejável ou não, dependendo do alimento. Durante a fase intermediária da reação, pode ocorrer a formação do hidróximetilfurfural (HMF) em reações paralelas. Seu monitoramento se faz necessário devido aos efeitos citotóxicos e carcinogênicos desse composto.^{1,2}

No doce de leite, a presença do HMF indica as primeiras manifestações do escurecimento. Além disso, a concentração de HMF aumenta com a quantidade do açúcar, com o tempo de aquecimento, com variações dos ingredientes e quantidade de açúcares redutores.³

Este trabalho teve por objetivo otimizar e validar um método para extração de HMF em leite e doce de leite utilizando o método QuEChERS, com etapa de limpeza a baixa temperatura e determinação por cromatografia líquida acoplada ao detector de arranjo de diodos (LC-DAD).

Resultados e Discussão

Para a otimização do método QuEChERS foi aplicado inicialmente um planejamento fatorial fracionado (2^{5-1}), onde foram estudadas as variáveis tempo de congelamento (2 a 12 h), volume de amostra (5 a 15 mL) e de acetonitrila (5 a 15 mL), concentração de $MgSO_4$ (0 a 40% m/v) e NaCl (0 a 5% (m/v)). Em seguida, a partir dos resultados obtidos no primeiro planejamento, foi aplicado um planejamento fatorial completo (2^3) apenas com as variáveis significativas, como tempo de congelamento (7 a 12 h), volume de amostra (5 a 10 mL) e volume de acetonitrila (10 a 15 mL). Para validação do método, foram avaliadas a linearidade, através das curvas analíticas no solvente, no extrato e curva trabalho, efeito matriz e a eficiência do processo, além da robustez, precisão (repetibilidade e precisão intermediária) e exatidão do método. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna Phenomenex 4,6 mm x 250 mm (4 μ m), com fase móvel composta por 20% de acetonitrila e 80% de água ultrapura. Após a aplicação dos planejamentos fatoriais sequenciais,

observou-se que após 7 h de tempo de congelamento foram obtidos os melhores resultados, onde não foi observada diferença significativa entre 7 e 12 h. A concentração de $MgSO_4$ otimizada foi de 40% (m/v), não sendo necessário a adição de NaCl para favorecer o efeito "salting out". O volume de amostra estudado entre 5 e 10 mL não apresentou diferença significativa, apresentando boas recuperações (entre 95 e 104%), assim como o volume de acetonitrila que foi estudado entre 10 e 15 mL. Portanto, foi utilizado o maior volume de amostra (10 mL) e o menor volume de acetonitrila estudado (10 mL), a fim de diminuir o consumo de solvente. No estudo da linearidade do método foram obtidos coeficientes de determinação (r^2) maiores que 0,997. Não foi observado efeito matriz (menor que 5%) na comparação das curvas preparadas no extrato e no solvente. No estudo da exatidão e precisão do método, as recuperações estiveram entre 80 e 105% com desvios padrão relativos (RSDs) menores que 8%, para ambas as matrizes.

Conclusões

O método mostrou-se exato e preciso, sendo adequado para determinação de HMF. Além disso, o método possui um custo relativamente baixo e com um baixo tempo de congelamento na etapa de limpeza a baixa temperatura quando comparado com os demais métodos descritos na literatura, mostrando-se eficiente para eliminação da interferência dos co-extrativos da matriz.

Agradecimentos

CNPq, Fapergs, FINEP, CAPES.

¹ Gaspar, E. M.S.M ; Lucena, A. F.F. Improved HPLC methodology for food control – furfurals and patulin as markers of quality. *Food Chemistry*, V. 114 , p. 1576–1582, **2009**.

² Capuano, E.; Fogliano, V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *HMF LWT Food Science and Technology*, V.44, p.793-810, **2011**.

³ Pauletti, M.S.; Calio, C.; Izquierdo, L.; Costell, E. Color y textura del Dulce de leche. Selección de métodos instrumentales para el control de calidad industrial. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, v.32, n.3, p.291-305, **1992**.