

# Acompanhamento da Produção de Ácidos em Amostras de Leite Fermentado por Fungos utilizando RP-HPLC

Lídia S. P. Martins(PG)<sup>1\*</sup>, Guilherme M. Titato e Luiz Henrique Mazo(PQ)<sup>1</sup> (\**lidiam@iqsc.usp.br*)

<sup>1</sup>GMEME-Instituto de Química de São Carlos, USP, Caixa Postal 780 – 13560-970 São Carlos, SP, Brasil.

Palavras Chave: Fungos, Leite, Ácidos orgânicos.

## Introdução

Os ácidos orgânicos aparecem em produtos de leite como resultado da hidrólise da gordura do leite durante a lipólise, do metabolismo bioquímico bovino normal e do crescimento bacteriano. Os ácidos orgânicos são os maiores produtos do catabolismo de carboidratos da bactéria ácida láctica (LAB) e favorecem o desenvolvimento de microorganismos. A determinação quantitativa de ácidos orgânicos é importante para monitorar a atividade e o crescimento bacteriano e também por razões nutricionais que contribuem para o sabor e aroma dos produtos derivados do leite<sup>1</sup>. A RP-HPLC apresenta como vantagens alta sensibilidade na determinação de substâncias e seletividade na separação dos constituintes das amostras. A técnica tem sido usada com muito sucesso para determinar simultaneamente uma variedade de ácidos orgânicos em diversas amostras<sup>2</sup>.

## Resultados e Discussão

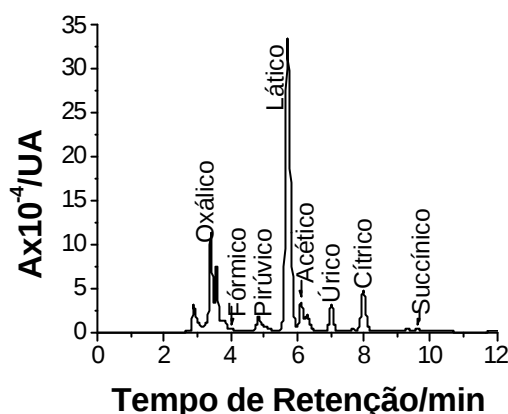
Estudos por RP-HPLC foram realizados para identificar os produtos de fermentação formados pela inoculação de fungos kefir e do Tibet em amostras de leite e em amostra comercial de iogurte. Pelos resultados obtidos oito ácidos orgânicos foram detectados e identificados na fermentação do leite pelos fungos kefir e do Tibet e em amostra comercial de iogurte. Na Tabela 1 estão mostrados tempos de retenção de padrões de 8 ácidos, injetados individualmente

**Tabela 1**-Valores de tempos de retenção obtidos através de soluções-padrão dos ácidos orgânicos. Condições: FM(100% tampão fosfato, pH 2,2); vazão F.M (0,9 mL min<sup>-1</sup>); T. análise =35°C; volume injetado (20 µL); detecção no UV à 210 nm e coluna C18 (StrodsII Peek) 250mm x 4,6 mmID.

| Ácidos Orgânicos | Concentração (mmol L <sup>-1</sup> ) | t <sub>R</sub> (min) |
|------------------|--------------------------------------|----------------------|
| Oxálico          | 0,32                                 | 3,38                 |
| Fórmico          | 8,5                                  | 4,08                 |
| Pirúvico         | 2,0                                  | 4,83                 |
| Lático           | 12,0                                 | 5,70                 |

|           |      |      |
|-----------|------|------|
| Acético   | 14,0 | 6,10 |
| Úrico     | 0,24 | 7,00 |
| Cítrico   | 5,0  | 8,01 |
| Succínico | 8,5  | 9,67 |

Pelo cromatograma mostrado na **Figura 1** foram identificados os ácidos láctico, oxálico, pirúvico, acético, úrico, cítrico, succínico e fórmico para amostra de leite fermentado pelo fungo kefir. Esta identificação foi feita por comparação entre os tempos de retenção dos compostos nas amostras de leite fermentado com os tempos de retenção dos padrões dos ácidos injetados individualmente (**Tabela 1**).



**Figura 1** - Cromatograma obtido por RP-HPLC de leite fermentado pelo fungo kefir em massa de 8g. Condições de análise: as mesmas descritas na legenda da Tabela 1.

## Conclusões

Os resultados obtidos por RP-HPLC comprovaram a presença de 8 ácidos orgânicos em todas as amostras analisadas, e em grandes quantidades para 6 dos ácidos detectados (ácidos: láctico, oxálico, acético, pirúvico, cítrico e úrico). Nas análises cromatográficas observou-se que todas as amostras apresentaram grande quantidade de ácido láctico e pouca quantidade de ácido fórmico e succínico.

## Agradecimentos

GMEME-Capes-UEMA

<sup>1</sup> R. Corli Witthuhn et al., *Intern. J. of Dair. Technol.* 57(1)**2004**.

<sup>2</sup> J.M.Izco, M. Tormo e R. Jiménez-Flores.*J. Agric. Food Chem.* 1765-1773(50)**2002**.