

# **Espectroscopia infrarroja con reflectancia total atenuada aplicada a la determinación y cuantificación de lactosa y proteínas en productos lácteos**

O. Teniza-García, M. Solis-Oba, R. Delgado-Macuil, M. Rojas-López \*

CIBA-IPN, Carretera Estatal Santa Inés Tecuexcomac, Km 1.5, Tepetitla, Tlaxcala, 90600 México

\* email: marlonrl@yahoo.com.mx

## **RESUMEN**

En la actualidad hay diversos productos que se ofrecen para consumo humano como complemento y suplemento alimenticio. De entre las materias primas que mas se han usado para la elaboración de dichos productos están las proteínas y la lactosa, cuyas concentraciones pueden determinarse comúnmente mediante métodos de lectura rápida (milkoscan). Sin embargo en este trabajo se encontró que el empleo de la espectroscopia infrarroja con reflectancia total atenuada permite detectar y cuantificar estas materias primas a concentraciones muy bajas y de una forma sencilla. Los productos lácteos usados fueron el suero deshidratado y la leche en polvo. Estos componentes presentaron bandas de absorción en diferentes regiones del infrarrojo mediano, lo cual permitió su diferenciación, mientras que su intensidad permitió la cuantificación con curvas de calibración. Los resultados de la espectroscopia infrarroja fueron correlacionados con los obtenidos mediante análisis por métodos de lectura rápida, se encontró que el nivel de detección de proteínas y lactosa con FTIR fue mayor que el obtenido solamente mediante el análisis de lectura rápida con milkoscan.

Palabras clave: Espectroscopia infrarroja, reflectancia total atenuada, lactosa, proteínas

## **I. INTRODUCCION**

El suero deshidratado y la leche en polvo son dos productos lácteos de gran importancia por su riqueza nutrimental (1). El primero es un sustrato de gran interés debido a la presencia de lactosa y por su contenido en proteínas solubles ricas en aminoácidos indispensables, así como la existencia de vitaminas del grupo B y ácido ascórbico (2). El suero en muchas empresas productoras de quesos se desecha, se vierte en los ríos, drenaje y en el medio ambiente, lo que ocasiona graves daños y problemas de contaminación. El suero ha sido objeto de numerosos trabajos de investigación, en los que se destacan sus beneficios alimentarios y nutricionales (3); además presenta propiedades nutricionales que permiten su uso como aditivo y enriquecedor de diversos alimentos, incluyendo sopas, salsas, aderezos para ensaladas y carnes, así como en la elaboración de productos bajos en grasa (4). De manera similar la leche en polvo es un producto lácteo de gran importancia nutricional y comercial, y que a diferencia del suero deshidratado, esta no posee un contenido tan importante de proteínas, pero si de los azúcares que constituyen la lactosa (5).

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) en su modalidad de muestreo por reflectancia total atenuada (ATR) constituye una técnica alternativa, económica y eficaz para el estudio de las materias primas (lactosa y proteínas) que sirven para la elaboración del suero deshidratado y leche en polvo. Esta técnica ha sido comúnmente utilizada para la identificación estructural o determinación cualitativa de la “huella digital” de diversos compuestos orgánicos, ya que algunos grupos de átomos muestran frecuencias de absorción vibracional características en esta región del espectro electromagnético. Estas frecuencias características de los grupos funcionales resultan ser una herramienta muy útil para el análisis cualitativo de la estructura y contribuye en gran medida en la elucidación total de las moléculas estudiadas. Además de lo anterior, la intensidad de absorción infrarroja contribuye al análisis cuantitativo, pues esta intensidad es proporcional a la concentración de sus respectivos grupos funcionales. Sin embargo, para este fin se requiere determinar las principales propiedades físico-químicas de las muestras lácteas a analizar como son el contenido de lactosa, proteínas, grasas, sólidos, y otras, mediante mediciones por milkoscan para convertir las unidades de intensidad de absorción infrarroja relativas en unidades absolutas. Con esto es posible predecir y cuantificar contenidos porcentuales de los principales compuestos de interés presentes en muestras con contenidos desconocidos.

## II. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se utilizó un espectrómetro infrarrojo de transformada rápida de Fourier (FTIR), Bruker, modelo Vertex 70 con modo de muestreo por reflectancia total atenuada (ATR) para obtener espectros de absorción en muestras de productos lácteos así como de estándares de lactosa y proteína (lactoglobulina) para el análisis de sus frecuencias, modos de vibración molecular e intensidad de los principales grupos funcionales que constituyen este tipo de muestras de productos lácteos.

El suero se obtuvo de una empresa productora de queso ubicada en Tlaxcala. El suero se ultrafiltró en un filtro termo sellado de tamaño de poro de 11 micras con agitación, modelo TFF de Millipore, para lograr concentrarlo hasta un mínimo de sólidos del 12 %. Posteriormente se secó en un secador por aspersión Spray dryer “Galaxi Argentina” para obtener el suero deshidratado. Se utilizaron también para el análisis leches comerciales en polvo. Posteriormente se prepararon soluciones de cada uno de los sueros deshidratados y de las leches en polvo, para utilizarse como muestras. Estas muestras se analizaron en el equipo de lectura rápida Milkoscan S50 del tipo 54B, para determinarles el contenido de lactosa y de proteína; estas mismas muestras se analizaron también en el equipo de espectroscopia FTIR. Para poder cuantificar las señales de proteína y de lactosa que se obtuvieron en los espectros FTIR se procedió a realizar una curva de calibración con lactosa y lactoglobulina comerciales, grado reactivo.

## III. RESULTADOS Y DISCUSION

La Figura 1 muestra los espectros ATR-FTIR típicos de suero y de leche en la región de la “huella digital” (800–1900  $\text{cm}^{-1}$ ). En estos puede observarse la presencia de tres de los componentes principales de estos productos lácteos como lo son: la lactosa (927–1187  $\text{cm}^{-1}$ ), las proteínas (1479–1720  $\text{cm}^{-1}$ ) y la grasa (1744  $\text{cm}^{-1}$ ). Se observa claramente que ambos tienen un contenido muy similar de lactosa (proporcional al área integrada en el intervalo correspondiente), sin embargo el contenido de proteína es aproximadamente 9 veces mayor, aunque también depende del tipo de leche analizada. Aunque las muestras de suero y de leche se tienen en polvo, fue necesario agregarles agua para tener una consistencia adecuada para realizar las mediciones FTIR y milkoscan. Sin embargo, los espectros ATR-FTIR mostrados se les ha suprimido la absorción debida al agua y solamente se observan las bandas correspondientes a los demás componentes mencionados. La Figura 2 muestra los espectros ATR-FTIR de lactosa diluida en agua en varias proporciones desde 1-45%. Claramente se observa que la intensidad integrada de absorción aumenta de manera proporcional con el contenido de lactosa, y de hecho se observa una relación lineal hasta aproximadamente el 20% (ver Figura 3). Después de este valor, la lactosa se precipita y se observan espectros que casi no varían en intensidad, pues se analiza siempre el mismo contenido de lactosa. En las Figuras 4 y 5 se muestran los resultados correspondientes a la dilución de proteína (lacto globulina) en agua a distintas proporciones.

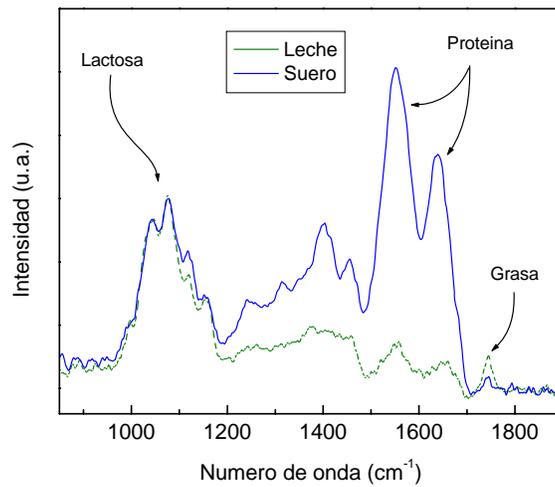


Figura 1. Espectros ATR-FTIR de muestras de suero y leche medidas en la región de la “huella digital”

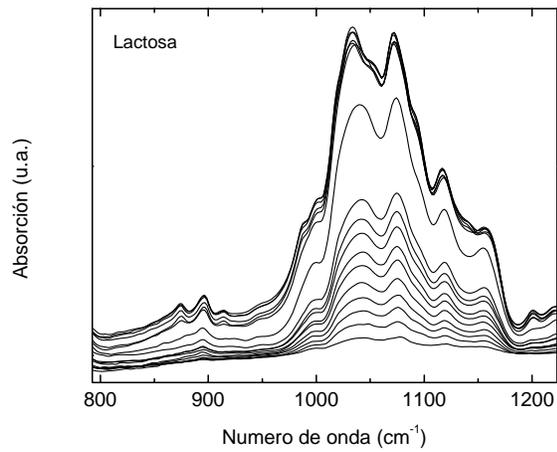


Figura 2. Espectros ATR-FTIR de lactosa diluida en agua en varios porcentajes de contenido (1-45%).

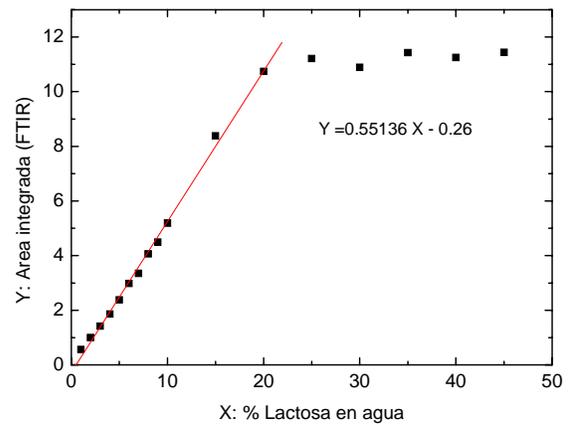


Figura 3. Curva de calibración que valida el area integrada FTIR de la región de la lactosa con el contenido de ésta diluido en agua.

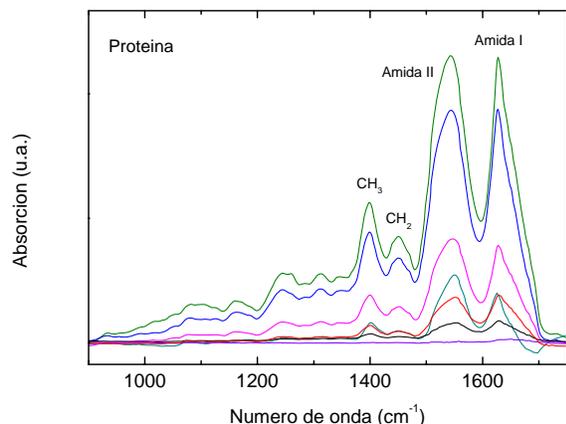


Figura 4. Espectros ATR-FTIR de proteína (lactoglobulina) diluida en agua en varios porcentajes de contenido (6-50%).

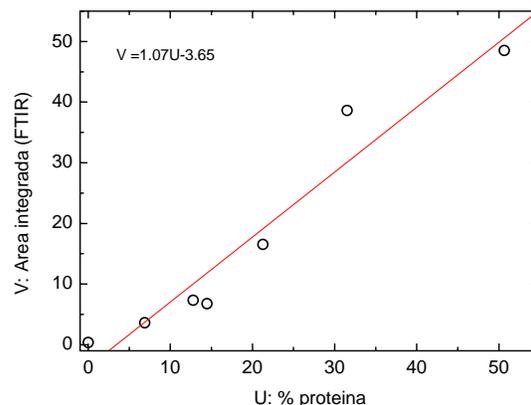


Figura 5. Curva de calibración que valida el área integrada FTIR de la región de las proteínas (amida I y amida II) con el contenido de ésta diluido en agua.

Este procedimiento sirve para validar y asignar valores absolutos a las intensidades integradas de las bandas de absorción FTIR asociadas a lactosa y a proteínas, a partir de valores conocidos de referencia. Las curvas obtenida puede servir así para predecir el contenido de lactosa y/o proteínas en una muestra real de leche o de suero mediante mediciones FTIR solamente. Otra ventaja que muestra la aplicación de este tipo de espectroscopia es que la curva de validación o calibración permite extrapolar el rango de detección hacia contenidos porcentuales mas bajos hasta aproximadamente  $\pm 0.5\%$  que son niveles de composición que no pueden ser determinados mediante mediciones por milkoscan o de lectura rápida.

## VI. CONCLUSIONES

El empleo de la espectroscopia FTIR mostró ser muy útil en el análisis cuantitativo de los componentes principales de los productos lácteos, como son las proteínas y la lactosa, ya que proporcionan bandas de absorción bien definidas y en diferentes regiones del rango infrarrojo mediano. En el caso de la lactosa se observan dos bandas intensas centradas alrededor de 1035 y 1072  $\text{cm}^{-1}$ , mientras que las proteínas también presentan dos bandas intensas bien definidas, con máximos en 1551 y 1637  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. Si de deseara determinar el contenido de grasa, también se podría realizar siguiendo esta misma metodología, ya que para este componente se obtiene una señal con máximo en 1744  $\text{cm}^{-1}$ . Otra de las ventajas que se observarán con la aplicación de este tipo de técnica espectroscópica es que la curva de validación o calibración permite extrapolar el rango de detección hacia contenidos porcentuales mas bajos hasta aproximadamente  $\pm 0.5\%$  que son niveles de composición que no puede ser determinados mediante mediciones por milkoscan o de lectura rápida.

## REFERENCIAS

1. Spreer, E. Lactología Industrial. (Acribia, 1991), pp 459.

2. Cabetas, N.; Jiménez, S. Aplicación del suero de quesería a la fabricación de yogurt. Alimentación equipos y tecnología. XI, 6, (1992) pp 67-71.
3. Balagtas J. V., Hutchinson F. M., Krochta J. M., Sumner D. A. Anticipating Market Effects of New Uses for Whey and Evaluating Returns to Research and Development, Journal of Dairy Science, 86, (2003), pp 1662-1672.
4. McGinnis L. New uses for dairy byproducts (Make Whey for Progress). Agricultural Research, may (2007)
5. Fitzpatrick J., Iqbal T. ; Delaney C.; Twomey T. ; Keogh M. Effect of powder properties and storage conditions on the flowability of milk powders with different fat contents, Journal of Food Engineering, 64:4 (2004), pp. 435-444

### **Agradecimientos**

Este trabajo fue realizado con el apoyo de los proyectos SIP20080679 y SIP20080237