



FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE

KEYNETE CUNHA DE LAIA

**ANÁLISE COMPARATIVA DO TEOR DE LIPÍDEOS
DO LEITE IN NATURA E UHT UTILIZANDO
QUIMIOMETRIA**

ARIQUEMES - RO

2017

Keynete Cunha de Laia

**ANÁLISE COMPARATIVA DO TEOR DE LIPÍDEOS
DO LEITE IN NATURA E UHT UTILIZANDO
QUIMIOMETRIA**

Monografia apresentada ao curso de Licenciatura em Química da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA, como requisito parcial à obtenção do Grau de Licenciada em Química.

Prof°. Orientadora: Ms°. Rafael Vieira

Ariquemes - RO

2017

Keynete Cunha de Laia

ANÁLISE COMPARATIVA DO TEOR DE LIPÍDEOS DO LEITE IN NATURA E UHT UTILIZANDO QUIMIOMETRIA

Monografia apresentada ao curso de Licenciatura em Química da Faculdade de Educação e Meio Ambiente como requisito parcial à obtenção do Grau de Licenciada em Química.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof°. Orientadora: Ms°. Rafael Vieira
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

Profª. Msª. Filomena Maria Minetto Brondani
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

Prof°. Ms°. Jhonattas Muniz de Souza
Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA

Ariquemes, 05 de junho de 2017.

A todos que me incentivaram e me apoiaram.

Em especial aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me abençoar durante toda essa trajetória.

À minha família, pelo incentivo e apoio.

Aos meus amigos que estavam presente durante todo o curso, em destaque, Catieli, Geslaine, Fabiana e Camila, e a todos os demais que contribuíram de alguma forma.

Em especial ao meu Orientador, Prof^o. Ms^o. Rafael que me auxiliou pacientemente e me proporcionou desenvolver esse trabalho.

Aos demais professores que trabalharam com a turma de Licenciatura em Química 2014.1, contribuindo com o conhecimento de cada um.

"[...]

O aumento do conhecimento é como uma esfera dilatando-se no espaço: quanto maior a nossa compreensão, maior o nosso contato com o desconhecido.

BLAISE PASCAL

RESUMO

O leite (e seus derivados) está entre os alimentos mais consumidos, e é considerado de alta importância para o nosso organismo. Possui nutrientes que contribuem para o desenvolvimento físico. A composição do leite se dá por proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas. Os lipídios estão presentes em uma grande quantidade, sendo 3,7% no leite in natura, compostos por triacilgliceróis que são ácidos graxos saturados. Alguns podem ser insaturados, e são considerados fontes de energia. O objetivo aqui é avaliar a extração de lipídios do leite UHT e do leite in NATURA, utilizando técnicas quimiométricas, utilizando um delineamento experimental, com o objetivo de verificar e avaliar, de forma coerente, os resultados obtidos, comparando a quantidade de gorduras que foram extraídas das duas amostras com a utilização de dois solventes diferentes, podendo assim identificar qual deles é mais eficaz para a extração. A extração de lipídios do leite in natura com a utilização do solvente hexano foi o mais eficiente, com uma extração de 12,27% em relação a sua massa inicial, e onde houve a menor extração foi a do leite UHT com a utilização do solvente éter de petróleo sendo 2,2%.

Palavras-chave: Leite, características físico-química, quimiometria e lipídeos.

ABSTRACT

Milk (and its derivatives) is among the most consumed foods, and is considered to be of great importance to our body. It has nutrients that contribute to physical development. The composition of milk is given by proteins, lipids, carbohydrates, minerals and vitamins. Lipids are present in a large amount, being 3.7% in the milk in natura, composed by triacylglycerols that are saturated fatty acids. Some may be unsaturated, and are considered sources of energy. The objective here is to evaluate the lipid extraction of UHT milk and milk in NATURA, using chemometric techniques, using an experimental design, with the objective of consistently verifying and evaluating the obtained results, comparing the amount of fats that were Extracted from the two samples with the use of two different solvents, thus being able to identify which one is most effective for the extraction. The extraction of lipids from the milk in natura with the use of the solvent hexane was the most efficient, with an extraction of 12.27% in relation to its initial mass, and where he hears the lowest extraction was of the UHT milk with the use of the solvent Petroleum ether being 2.2%.

Words-Keys: Milk, physicochemical characteristics, chemometric And lipids

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Quadro de probabilidade. Efeitos em comparação com os valores de z. ..	29
Figura 2- Gráfico de efeitos.....	32
Figura 3- Diagrama de contorno.....	33
Figura 4- Área de resultado.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Ácidos graxos saturados	19
Tabela 2- Ácidos Graxos Insaturados	20
Tabela 3 - Planejamento fatorial completo	25
Tabela 4 - Tratamentos de dados	26
Tabela 5- Resultados dos efeitos	27
Tabela 6- Quadrado dos efeitos	27
Tabela 7- Percentual dos efeitos (%)	28
Tabela 8- Distribuição normal.....	28
Tabela 9- Tratamento estatístico.....	30
Tabela 10- Tratamento estatístico- processo final.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C-Graus Célsius

g -Gramas

IUPAC- União Internacional de Química Pura

R_I - Resposta I

R_{II}- Resposta II

UHT- Ultra High Temperature (alta temperatura)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS.....	14
2.3 LIPÍDIOS.....	15
2.3.1 Glicerídeos	15
2.3.2 Fosfolipídios	16
2.3.3 Glicolipídeos	17
2.3.4 Esfingolipídeos	17
2.3.5 Ceras	18
2.3.6 Ácidos graxos	18
2.3.7 Método de determinação de lipídio	20
2.4 ABORDAGEM QUIMIOMÉTRICA.....	20
3 OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4 METODOLOGIA	23
4.1 PREPARAÇÕES DAS AMOSTRAS	23
4.2 REALIZAÇÕES DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	23
4.2.1 determinação de lipídios	23
4.3 PLANEJAMENTO FATORIAL.....	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO.....	25
5.2 CÁLCULO DOS EFEITOS	26
5.3 INTERPRETAÇÃO GRÁFICA.....	31
CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36

INTRODUÇÃO

O leite contribui com uma parcela significativa na economia do Brasil e no mundo. É um produto que promove a aceleração da economia gerando emprego e renda ao país. O Brasil situa-se na quinta posição na produção dessa matéria-prima, produzindo 33,3 bilhões de litros ao ano. As regiões sul e sudeste são as que se destacam no cenário nacional. O estado de Rondônia situa-se na 8ª posição na produção leiteira nacional (USDA, 2014).

O leite é considerado um alimento essencial para o ser humano. É classificado como um alimento completo e está inserido na dieta da população em geral. Possui micro e macromoléculas essenciais, como, por exemplo, proteínas de alto valor, além de conter minerais e vitaminas (MUNIZ et al., 2013).

Para o monitoramento do leite são necessárias análises que determinam a qualidade do produto. Devido à grande demanda no consumo de leite e derivados é necessário manter um padrão de qualidade pelas indústrias. O leite bovino contém cerca de 87% de água, 3,7% de gordura, 3,4% de proteínas, 4,6% de lactose e 0,9% de minerais e vitaminas. Suas características físico-químicas são importantes para determinar o valor nutricional e o valor industrial (HARDING, 1995).

Quanto aos lipídios apresenta uma quantidade significativa, sendo 3,7% no leite fresco e 27,5% no leite em pó. Um dos procedimentos mais comuns para se determinar o teor de lipídios é através do método de Soxhlet (BOLZAN, 2013; CECCHI, 2003).

Técnicas quimiométricas, através de planejamento experimental, foram empregadas visando a exploração dos resultados obtidos que foram representados estatisticamente. Os métodos quimiométricos são ferramentas valiosas não só para determinar o número de componentes independentes no sistema de reação, mas também para extrair os perfis dos experimentos realizados (NEYMEYR, et al., 2015).

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é a realização de um estudo comparativo entre amostras de leite in natura e do leite industrializado UHT através de ferramentas quimiométricas que irão delinear o experimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICA

Os cinco países que apresentam grande produção leiteira por ano estão na União Europeia. Em seguida vem a Índia, os Estados Unidos, a China e o Brasil, este com uma produção mundial da ordem de 33,3 bilhões de litros por ano. Os maiores produtores também são os maiores consumidores do produto (USDA, 2013).

No Brasil a região Sul e Sudeste apresentam índices de maior produção de leite. Logo depois vem o Centro-Oeste, Nordeste e por ultimo a região Norte. Os estados com maior produção no Brasil são: Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná. O estado de Rondônia ocupa a 8ª posição na produção nacional (USDA, 2013).

O leite é considerado um dos alimentos que possui o maior teor de nutrientes, sendo rico em proteínas de qualidade, fornecendo todos os 10 aminoácidos essenciais para o nosso organismo (ROCHA, 2004).

Os nutrientes que compõem o leite de vaca são formados nas glândulas mamarias. A formação se dá a partir da alimentação e do seu metabolismo. O leite é formado por componentes como a água, gorduras, proteínas, vitaminas, sais minerais e glicídeos (GONZÁLES, 2001).

A característica do leite pode ser notada através dos sentidos, como, olfato, visão e paladar, que permitem perceber aspectos físicos do leite como cor, aroma e sabor (SARCINELLI; VENTURINI, 2007).

O leite apresenta característica líquida e homogênea, e quando deixado em repouso deve apresentar uma camada de gordura na superfície, não podendo conter substâncias diferentes e devendo estar sempre puro e limpo (SARCINELLI; VENTURINI, 2007).

O odor do leite está relacionado com a forma de alimentação das vacas, o qual o leite recém-ordenhado é suave e levemente ácido e tem odor característico do lugar da ordenha, podendo vir a apresentar odores desagradáveis causados por contatos com utensílios infectados e microrganismo, esses odores serão eliminados

quando o leite for submetidos ao processo de pasteurização (SARCINELLI; VENTURINI, 2007).

O leite possui um gosto relativamente doce devido à alta quantidade de lactose presente. Os outros elementos que faz parte da constituição do leite também exercem papéis importantes em seu sabor. Quanto maior o teor de gordura mais saboroso será o leite (SARCINELLI; VENTURINI, 2007).

A conservação do leite ordenhado deve ser mantida a uma temperatura de 7°C, para, posteriormente ser enviada aos laboratórios para análise (TEOFILO; FERREIRA, 2006). O leite deve ser refrigerado em tanques de refrigeração. Deve ser levado por caminhões refrigerados onde será conservada a temperatura até o local do processamento industrial. O leite deve ser submetido à refrigeração em até no máximo duas horas após a ordenha, para que não haja deterioração (DÜRR, 2012).

2.3 LIPÍDIOS

Lipídios são definidos como componentes solúveis em solventes orgânicos, como hexano, acetona, benzeno, éter de petróleo, sendo insolúveis em água. Os lipídios possuem diversas funções para o nosso organismo, alguns são importante na formação de hormônios e fazem parte na formação de membrana celular, que atuam na transmissão de impulsos nervosos atuam também de maneira importante como isolante térmico do corpo e protegem os órgãos internos (FERREIRA, 2009).

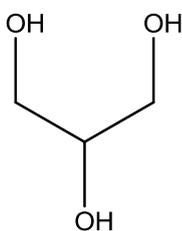
Os lipídios estão presentes em grande quantidade no leite, 3,7% no leite fresco e 27,5% no leite em pó (BOLZAN, 2013; CECCHI, 2003). Os lipídios são classificados em: simples: óleos e gorduras, compostos: fosfolipídios, ceras etc., e derivados: ácidos graxos, esteróis. Os lipídios que possuem ligação com ácidos graxos são os: glicerídeos, fosfolípideos, glicolípideos, esfingolípideos e as ceras (LUTZ, 2008).

2.3.1 Glicerídeos

Glicerídeos são os lipídios encontrados em maior quantidade nos alimentos, é considerado muito importante para o nosso organismo, atua como isolante térmico

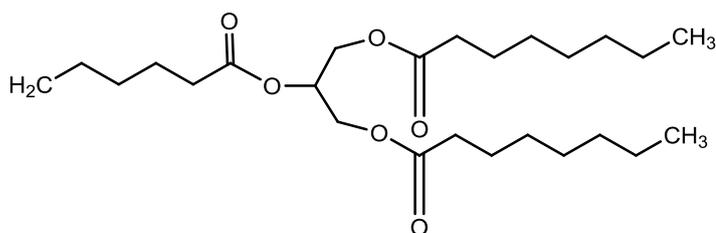
do corpo, mantendo constante a temperatura, e protegendo os órgãos internos, é utilizado também como reserva de energia (REDA, 2007)

O glicerídeos consiste em moléculas de glicerol ou 1,2,3 propanotriol, com forma molecular $C_3H_8O_3$, ligado a uma, duas ou três moléculas de ácidos graxos. Formando assim o mono, di, e triglicerídeos (FERREIRA, 2009). É um composto orgânico pertencente ao grupo dos álcoois composto por três hidroxilas. Nas estruturas abaixo 1e 2, temos uma molécula de glicerol sozinha (estrutura 1) e um triaglicerídeos (estrutura 2) que é a ligação de três ácidos graxos na estrutura do glicerol.



Estrutura 1- Estrutura do glicerol.

Fonte: Software Chem Draw Ultra



Estrutura 2- Estrutura do Triaglicerídeos.

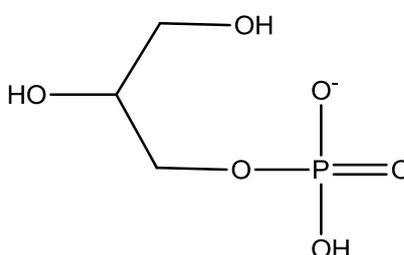
Fonte: Software Chem Draw Ultra

2.3.2 Fosfolipídios

É qualquer um dos vários lipídios que contém em sua fórmula o fósforo, que são resultados da ligação de um glicerídeo a um grupo fosfato. São compostos por ácidos graxos, um grupo fosfato e uma molécula orgânica simples, como por

exemplo, o glicerol. O glicerol possui em sua fórmula três hidroxilas onde duas delas vão se ligar aos ácidos graxos e a outra a um ácido fosfórico (GALLO, 2014).

Os fosfolipídios são considerados os principais componentes da membrana celular. Esse tipo de lipídios por ser formado por ligação de um grupo fosfato com o glicerídeo faz com que uma parte tenha afinidade com a água e a outra não. Os fosfolipídios são ésteres do glicerofosfato um derivado fosfórico do glicerol (CELINE POMPÉIA, et al., 2002). Glicerofosfato é a junção de um glicerol com um fosfato, como podemos observar na forma estrutural a baixo.



Estrutura 3- Estrutura de um Fosfolipídio.

Fonte: Software Chem Draw Ultra

2.3.3 Glicolipídeos

São compostos por uma mistura de ésteres de ácidos graxos, carboidratos como a galactose ou a glicose e álcoois. São ligadas através de ligações glicosídicas são formados pela união de um ácido graxo, glicerol e o açúcar (GOULART, 2014).

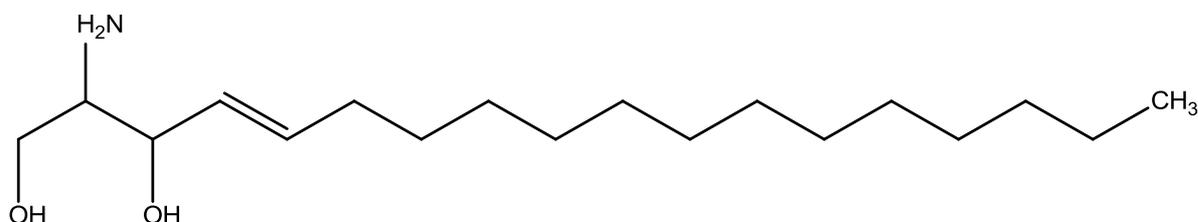
O carboidrato que estão presente no leite é um dissacarídeo denominado lactose (galactose β 1,4 glicose) que quando é digerido se transforma em molécula de glicose e galactose, que unidas com ácidos graxos formas os glicolipídeos, os mais comuns são: galactocerebrosídeos e glicocerebrosídeo, que estão presentes principalmente no sistema nervoso (GOULART, 2014).

2.3.4 Esfingolipídeos

Os esfingolipídeos são semelhantes aos fosfolipídios, o que difere os dois é que o esfingolipídio não é derivado de glicerol e sim de um amino álcool. Estes lipídios são compostos por três componentes fundamentais: um grupo polar, um

ácido graxo e uma estrutura chamada de base esfingóide, uma longa cadeia hidrocarbônica derivada do D-eritro-2-amino-1,3-diol. Chamado de base por conter o amino que em contato com soluções aquosas pode ser modificado para íon amônio. Os esfingolípídeos são classificados de acordo com o grupo que está conectado ao esfingóide (GOULART, 2014).

Esse grupo de lipídios também faz parte da membrana, assim como os fosfolípídeos. Pode estar ligada a um açúcar ou um éster fosfórico (GALLO, 2014). Na estrutura abaixo da esfingosina, representada na estrutura 4, um álcool aminado com uma cadeia de hidrocarbonato insaturada que contém 18 átomos de carbono e faz parte da classe dos lipídios esfingolípídeos.



Estrutura 4- Estrutura de uma Esfingosina.

Fonte: Software Chem Draw Ultra

2.3.5 Ceras

Ceras são formadas por cadeias longas de ácidos graxos e álcool. Podendo ser produzida tanto por animais quanto por plantas (GOULART, 2014).

A cera mais conhecida do reino animal é a produzida por abelhas. No reino vegetal é comum encontrar esse tipo de cera nas folhas das plantas, serve para evitar a evaporação de água. A cera mais comum derivada de vegetais é a da carnaúba brasileira (*Copernicia prunifera*) (MOTTA, 2009).

2.3.6 Ácidos graxos

Os ácidos graxos são considerados componentes orgânicos por serem formados basicamente por carbono e hidrogênio possuem sempre em sua molécula número de carbonos pares, é um tipo de ácido carboxílico (COOH) formado por cadeias

abertas, são pouco solúveis em água e quanto maior a cadeia carbônica menor será a sua solubilidade (MENEZES, et al., 2005).

Os ácidos graxos podem ser saturados formados apenas por ligações simples entre carbonos ou insaturados apresentando duplas ligações, podendo ser monoinsaturados apresentar somente uma ligação dupla na molécula ou poli-insaturados apresentando duas ou mais ligações dupla entre carbonos (GOULART, 2014).

São encontrados no leite os triacilgliceróis que são ácidos graxos saturados formados por cadeias carbônicas de 4 a 18 carbonos em sua estrutura, alguns podem ser insaturados, como o ácido oléico (32%), e os outros ácidos presentes no leite são saturados como o, tetradecanóico (20%), hexadecanóico (15%), octodecanóico (15%) e o ácido dodecanóico (6%), e o ácido butanóico este presente somente nesse grupo de gordura. (VICENZI, 2004). Nos alimentos, o lipídio, além de fonte de energia, desempenha funções importantes, como a participação de emulsões e de atuar na viscosidade dos produtos alimentícios (BOLZAN, 2013; CECCHI, 2003).

A tabela 1 apresentada abaixo contempla diferentes tipos de ácidos graxos que podem ser encontrados no leite e seus derivados.

Tabela 1- Ácidos graxos saturados

Nome comum	Nome IUPAC	Formula molecular	Algumas Fontes
Butírico	Butanóico	$C_4H_8O_2$	Gordura do leite
Capróico	Hexanoico	$C_6H_{12}O_2$	Gordura do leite, óleos de coco.
Caprílico	Ocatanóico	$C_8H_{16}O_2$	Gordura do leite, óleos de coco.
Láurico	Dodecanóico	$C_{12}H_{24}O_2$	Óleo de semente das leucea e gordura do leite
Mirístico	Tetradecanóico	$C_{14}H_{28}O_2$	Óleo de noz- moscada, gordura do leite.
Palmítico	Hexadecanóico	$C_{16}H_{32}O_2$	Óleo de palma, leite e derivados
Estearico	Octadecanóico	$C_{18}H_{36}O_2$	Gordura animal e plantas tropicais
Araquídico	Eicosanóico	$C_{20}H_{40}O_2$	Óleo de amendoim

Fonte: Keynete Cunha de Laia

Na tabela 2, há exemplos de alguns ácidos graxos insaturados, e onde pode ser encontrados.

Tabela 2- Ácidos Graxos Insaturados

Nome comum	Nome da IUPAC	Formula molecular	Algumas fontes
Oléico	9-cis-octadecenóico	$C_{18}H_{34}O_2$	Gordura animal, vegetal e do leite
Linoléico	9,12-15 octadienóico	$C_{18}H_{32}O_2$	Óleos de amendoim e girassol
Araquidônico	Eicosatetraenóico	$C_{20}H_{32}O_2$	Gorduras animais
docosa-hexaenóico	Eicosapentanóico	$C_{22}H_{32}O_2$	Óleo de peixes

Fonte: Keynete Cunha de Laia

2.3.7 Método de determinação de lipídio

A determinação dos lipídios se dá através da utilização de solventes orgânicos, como, por exemplo, hexano, éter de petróleo e o éter etílico. A extração na maioria das vezes é feita usando-se o aparelho de Soxhlet, que é efetuada através da destilação ou evaporação do solvente usado. Na extração do lipídio pode se extrair alguns componentes como os ácidos graxos livres, lecitinas, carotenoides, ésteres, vitaminas A e D, fosfatídios, e óleos essenciais. Porém, em quantidades mínimas que não chega a interferir no resultado final da extração (LUTZ, 2008).

Segundo Lutz (2008), para uma maior extração de lipídios da amostra utiliza-se o éter de petróleo que faz a completa remoção da fração lipídica. Será feita a extração de lipídios usando-se o éter de petróleo e o hexano, e feita uma comparação de dados entre os dois solventes utilizados e representados estatisticamente os resultados obtidos.

Os solventes apolares rompem o fragmento lipídico, que contém ácidos graxos livres, como o mono, di e trigliceróis e outros como fosfolipídios, glicolipídeos e esfingolipídios considerado mais apolares (CECCHI, 2003).

2.4 ABORDAGEM QUIMIOMÉTRICA

Quimiometria é a área da química que se emprega métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar experimento de maneira a delimitar os

dados, podendo assim fornecer informação importante sobre os resultados obtidos através dos experimentos realizados permitindo extrair o máximo de informação (VOLPE, et al., 1999).

A quimiometria é uma ferramenta que utiliza dados matemáticos e estatísticos para obter informações relevantes sobre um problema em estudo (PEREIRA FILHO, 2015).

A quimiometria é um estudo que tem abordagem sobre cálculos estatísticos para qualificar determinado estudo, com relevantes informações sobre o processo realizado nos experimentos. Para a realização dos cálculos é necessário ter um breve conhecimento de softwares como Microsoft Excel, Octave ou Matlab. Na quimiometria existem dois tipos de planejamento fatorial, o completo e o fracionário (BARROS NETO, et al., 2001 e PEREIRA FILHO, 2015). Neste estudo foi utilizado o planejamento fatorial completo transitando em duas variáveis, conhecido como planejamento fatorial 2^2 .

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo comparativo do teor de lipídeos do leite UHT e in natura.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar a extração de lipídeos com diferentes solventes
- Utilizar planejamento fatorial 2^2 para delineamento do experimento
- Utilizar técnicas e métodos para a exploração dos resultados adquiridos (quimiometria).

4 METODOLOGIA

4.1 PREPARAÇÕES DAS AMOSTRAS

O leite in natura destinado para a análise foi coletado em um sítio do município de Campo Novo de Rondônia – RO, a amostra foi embalada, colocada em um recipiente térmico e transportada até o local da análise para a preparação das amostras. O leite UHT foi adquirido em um supermercado local e transportado para a preparação das amostras. O leite in natura e o UHT foram submetidos a um processo de secagem, onde foram colocados 400 mL de leite em um Becker e levado ao fogareiro, deixando aquecer até entrar em estado de ebulição por aproximadamente 40 minutos, mexendo periodicamente com o auxílio de um bastão de vidro até obter uma consistência sólida. Esse processo foi feito para os dois tipos de amostras.

4.2 REALIZAÇÕES DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA

As análises físico-química foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Educação e Meio Ambientes em Ariquemes, Rondônia. Todos os procedimentos foram efetuados em duplicatas devido às condições do aparelho.

4.2.1 Determinação de lipídios

Para a determinação do teor de lipídios das amostras de leite foram utilizados dois tipos de solventes orgânicos: o éter de petróleo e o hexano. Foi determinado o teor de lipídios através do método de Soxhlet. Para avaliar o teor de lipídios foram feitos em um extrator de lipídios de seis provas (modelo Q388G26 marca Quimis®), cuja extração é feita de maneira constante, na qual se pinga de 4 a 5 gotas por segundos durante seis horas seguidas. Foi transferido um volume de 200 mL de solvente para o frasco de destilação do aparelho. Foram reguladas as chapas aquecedoras a uma temperatura de 105°C, para que ocorresse a destilação do

solvente. Logo depois foram regulados os registros de refluxo para que o gotejamento mantivesse constante durante o processo de extração.

Para o preparo das amostras pesou-se 5 gramas em uma balança analítica (marca Bel Engineering, modelo M214Ai Classe 1), registrou-se a quantidade de massa pesada, envolveu-se o conteúdo pesado em um papel vegetal e transferiu-o para o cartucho do extrator. Sequencialmente, ajustou-se o cartucho com a amostra ao aparelho. Em seguida adicionou-se o solvente ao frasco de destilação previamente pesado, e o acoplou ao extrator do aparelho. Após ter colocado o cartucho com a amostra e o frasco de destilação ao aparelho ligou-se o sistema de circulação de água e o aquecedor no qual permaneceram ligadas durante seis horas. Após o processo de extração, a amostra foi retirada do aparelho e destilado o solvente que continha a gordura extraída. O solvente foi destilado no próprio aparelho e recuperado. A amostra foi levada para um dessecador para que os últimos resquícios de solvente fossem eliminados, e então foi pesado novamente o frasco que continha o produto final.

4.3 PLANEJAMENTO FATORIAL 2²

Para realizar o cálculo dos efeitos é necessário selecionar quais são as variáveis que serão estudadas, com objetivo de compreender a alteração de cada fator no resultado da análise do experimento (que no presente estudo representa a quantia de lipídios que foi extraída do leite). Mudanças intencionais são feitas para que possam analisar as possíveis modificações supostas pelo resultado desejado, e as razões que levaram a sofrer as alterações. No planejamento fatorial cada fator representa dois níveis diferentes, que nesse caso seriam os dois tipos de solvente e os dois tipos de substrato (BARROS NETO, et al., 2001).

Para a realização dos cálculos de z com os valores dos efeitos deve ser realizado no software Excel, que demonstrara a probabilidade de eventuais ocorrências que pode vim a interferir nos resultados dos testes analisados. Para a realização do calculo de variância deve se elevar ao exponencial do coeficiente de ensaio, resultado obtido através da probabilidade dos erros dos ensaios que foram executados (BARROS NETO, et al., 2001; VILETE, 2016).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO

Para a realização do planejamento fatorial 2^2 , foi realizados ensaios e registradas as respostas observadas (chamadas de rendimentos), em todas as quatro combinações de níveis escolhidos. Foi determinada a média de cada ensaio que foi realizado (BARROS NETO, et al., 2001).

O planejamento fatorial representado na tabela 3 é a primeira parte que deve ser feita para a realização do desenvolvimento de tratamentos de dados e é a partir dele que irá se obter os demais resultados das experimentações.

Tabela 3 - Planejamento fatorial completo

Variáveis		Níveis				
**	Inferior (-1)	Superior (1)				
A	Leite in natura	Leite UHT				
B	Hexano	Éter de petróleo				
Ensaio	Amostra	Solvente	Rendimento		Média	
**	A	B	R _I	R _{II}	**	
1	-1	-1	0,61	0,617	0,6135	
2	1	-1	0,51	0,549	0,5295	
3	-1	1	0,44	0,447	0,4435	
4	1	1	0,132	0,088	0,11	

Fonte: Keynete Cunha de Laia

A tabela acima contempla o planejamento realizado para comparação da extração de lipídios do leite UHT e do leite in natura. Nota-se de maneira preliminar que os experimentos 1 e 2 foram os que apresentam maiores respostas, ou seja, maior quantidade de lipídeos extraído.

A quimiometria permite uma análise mais detalhada sobre qual variável é mais significativa e relevante para realização dos ensaios. Dessa forma, a seguir serão apresentados os cálculos que deram embasamento para o delineamento experimental aqui retratado.

5.2 CÁLCULO DOS EFEITOS

O planejamento fatorial de experimentos permite avaliar os efeitos de diferentes fatores, bem como as suas interações sobre a variável resposta. Para isso, devem-se selecionar os fatores em que cada nível irá atuar (TEOFILO; FERREIRA, 2006).

No planejamento que contém dois níveis normalmente é representado com sinais (+) e (-) que diferencia o nível superior do nível inferior. A atribuição destes sinais aos níveis superiores e inferiores é feita de forma aleatória e não interfere na realização dos experimentos ou interpretações dos resultados, além de permitir ilustrar o planejamento na forma de matrizes de planejamento (BARROS NETO, et al., 2001; TEOFILO; FERREIRA, 2006).

Como descrito na tabela 3, o ensaio que contiver o solvente hexano será representado pela unidade -1, e as amostras com éter de petróleo será representada pela unidade +1. Essa representação também servirá para o tipo de leite, que será representado por -1 o leite in natura e as que estiverem com a amostra do leite UHT por +1.

Os cálculos dos efeitos serão representados na tabela 4. Os efeitos são obtidos através da média de cada ensaio, onde é multiplicado pelo nível de cada uma das variáveis e pela relação que há entre elas, se a resposta da multiplicação for negativa a variável em questão será inferior, se positiva, superior, representadas especialmente por (\bar{Y} -) e (\bar{Y} +). Tendo assim os resultados inferiores ou superiores para cada variável em todos os testes (BARROS NETO, et al., 2001).

Tabela 4 - Tratamentos de dados

Ensaio	Variável A	Variável B	Media da interação AB
1	-0,6135	-0,6135	0,6135
2	0,5295	-0,5295	-0,5295
3	-0,4435	0,4435	-0,4435
4	0,11	0,11	0,11

Fonte: Keynete Cunha de Laia

No tratamento de dados, através dos resultados alcançados pôde-se determinar os efeitos gerados por qualquer um dos testes, para cada variável e também a relação das duas. É possível compreender que cada variável e a relação que há entre elas apresentam dois resultados no nível superior e no nível inferior. Os efeitos são calculados através de somatória das médias de nível superior subtraído por dois que é o número de nível deste estudo. Desta forma os efeitos são adquiridos como sendo a média das respostas no nível superior, menos a média das respostas no nível inferior (BARROS NETO, et al., 2001; VILETE, 2016).

A composição do leite é representada pela variável (A), o efeito é determinado da seguinte maneira: os resultados do nível superior, que são os ensaio pares (1 e 2) são: 0,6135 e 0,5295 entram em contraste como nível inferior, (3 e 4), cuja as respostas são: 0,4435 e 0,11. Os resultados adquiridos para os efeitos estão demonstrados abaixo na tabela 5 e a equação 01 utilizada para efetuar os cálculos dos efeitos.

Equação 1 - Aplicada para o cálculo dos efeitos.

$$\text{Efeito} = \frac{\sum \dot{Y}_+}{2} - \frac{\sum \dot{Y}_-}{2}$$

Tabela 5- Resultados dos efeitos

Efeito variável A	Efeito variável B	Rendimento da variável AB
-0,20875	-0,29475	-0,12475

Fonte: Keynete Cunha de Laia

Após a obtenção dos resultados dos efeitos todos os números obtidos serão elevados ao quadrado, desse modo não haverá número com sinal negativo, com isso pode-se calcular o percentual significativo para qualquer um dos efeitos. Desta maneira, as respostas obtidas através dos cálculos de elevação ao quadrado estão representadas abaixo na tabela 6.

Tabela 6- Quadrado dos efeitos

Variável – A	Variável –B	Variável - AB	Somatória dos quadrados
0,04358	0,08687	0,01556	0,146017

Fonte: Keynete Cunha de Laia

O percentual relevante de cada variável é adquirido com o resultado do quadrado dos efeitos, expressa a seguir na tabela 7.

Tabela 7- Percentual dos efeitos (%)

Variável – A	Variável – B	Interação – AB
29,8435	59,4983	10,6580

Fonte: Keynete Cunha de Laia

A variável (B) aponta o percentual mais significativo para este estudo, e através de cálculos e representações gráficas poderemos confirmar esses resultados a seguir.

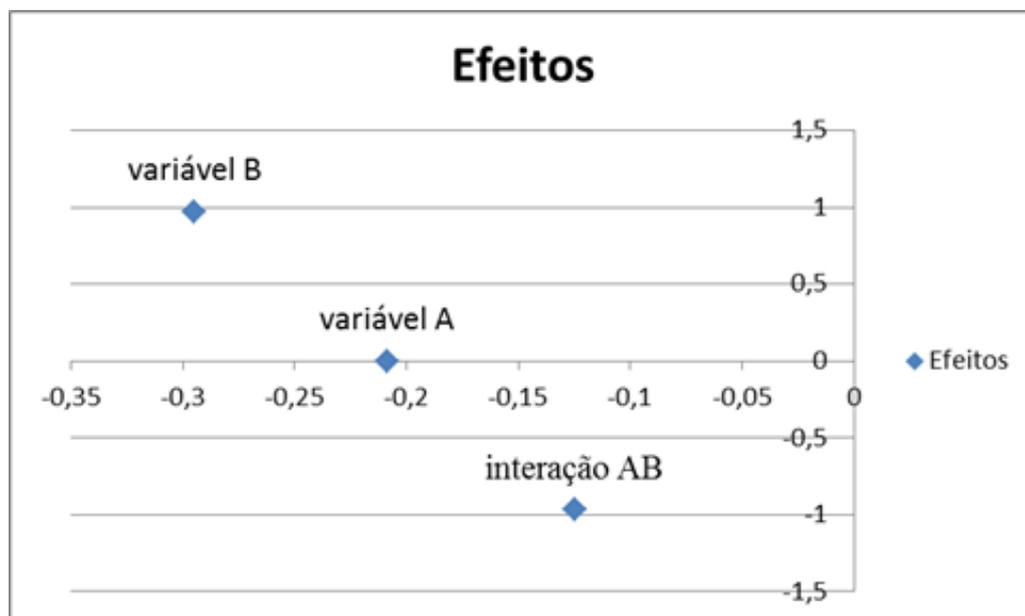
Para a confirmação desses resultados deve ser feito a distribuição normal. Os dados que foram utilizados para o desenvolvimento dos cálculos matemáticos estão representados na tabela 8. Os cálculos foram desenvolvidos no software Excel, foram relacionados os valores de z com os valores dos efeitos adquiridos para demonstrar a probabilidade de eventuais ocorrência que pode vim a interferir nos resultados dos testes realizados (BARROS NETO, et al., 2001; VILETE, 2016).

Tabela 8- Distribuição normal

Variáveis	Efeito	Quadrado	%	Início	Fim	Centro	Z
AB	-0,12475	0,0156	10,658	0	0,3333	0,1666	-0,9674
A	-0,20875	0,0436	29,843	0,333	0,666	0,5	0
B	-0,29475	0,0868	59,498	0,666	1	0,833	0,9674

Fonte: Keynete Cunha de Laia

Figura 1- Quadro de probabilidade. Efeitos em comparação com os valores de z



Fonte: Keynete Cunha de Laia

A figura 1 demonstra os resultados que foram representados em forma de quadro de probabilidade, que quanto mais afastado do zero maior a influência sobre o resultado final, e o que mais se aproximar do zero tem menos relevância, portanto, para se alegar que realmente todas as variáveis deste estudo podem influenciar diretamente nos resultados é necessário se fazer um teste t. Dessa forma, todos os valores abaixo do resultado do t crítico, são descartados.

Tabela 9- Tratamento estatístico

Ensaio	Variáveis		Respostas		Média	Var. respos.	Nº exper.	G.L	coef	Coef ^2
***	A	B	R1	R2	**	**	**	**	**	**
1	-1	-1	0,61	0,617	0,6135	0,0000245	2	1	0,5	0,25
2	1	-1	0,51	0,549	0,5295	0,0007605	2	1	0,5	0,25
3	-1	1	0,44	0,447	0,4435	0,0000245	2	1	0,5	0,25
4	1	1	0,132	0,088	0,11	0,000968	2	1	0,5	0,25
								4		1

Fonte: Keynete Cunha de Laia

Onde:

Var. Respos.: Variância das Respostas;

Nº Exper.: Número de experimentos;

G. L.: Grau de Liberdade;

Coef.: Coeficiente;

Coef 2^2.: Quadrado do Coeficiente.

Todos os dados estatísticos vão ser empregado no resultado final do procedimento de tratamento de dados, utilizando-se ferramentas quimiométrica, onde estará desenvolvido o teste (t) que representa a diferença entre a média do resultado obtido para um ensaio com a resposta obtida entre todos os outros testes. Utiliza-se a somatória do valor de grau de liberdade que representa a quantidade de ensaios realizados. Os valores obtidos através dos resultados do tratamento de dados estão demonstrado na tabela 10 a seguir.

A variância indicada nos experimentos demonstra a variação que pode vir a ocorrer de um ensaio para outra. O cálculo do erro experimental pode ser calculado com a elevação ao exponencial do coeficiente de ensaios, resultado que foi obtido representa a probabilidade de erro dos ensaios que foram executados (BARROS NETO, et al., 2001; VILETE, 2016).

Tabela 10- Tratamento estatístico- processo final

Var. exper.	Erro Exper.	Var. Efei.	Erro Efei.	Teste (T)	t crítico
0,00044	0,02108	0,00022	0,01491	2,77644	0,04138

Fonte: Keynete Cunha de Laia

Onde:

Var. Exper.: Variância dos experimentos;

Erro Exper.: Erro dos experimentos;

Var. Efei.: Variância dos efeitos;

Erro Efei.: Erro dos efeitos.

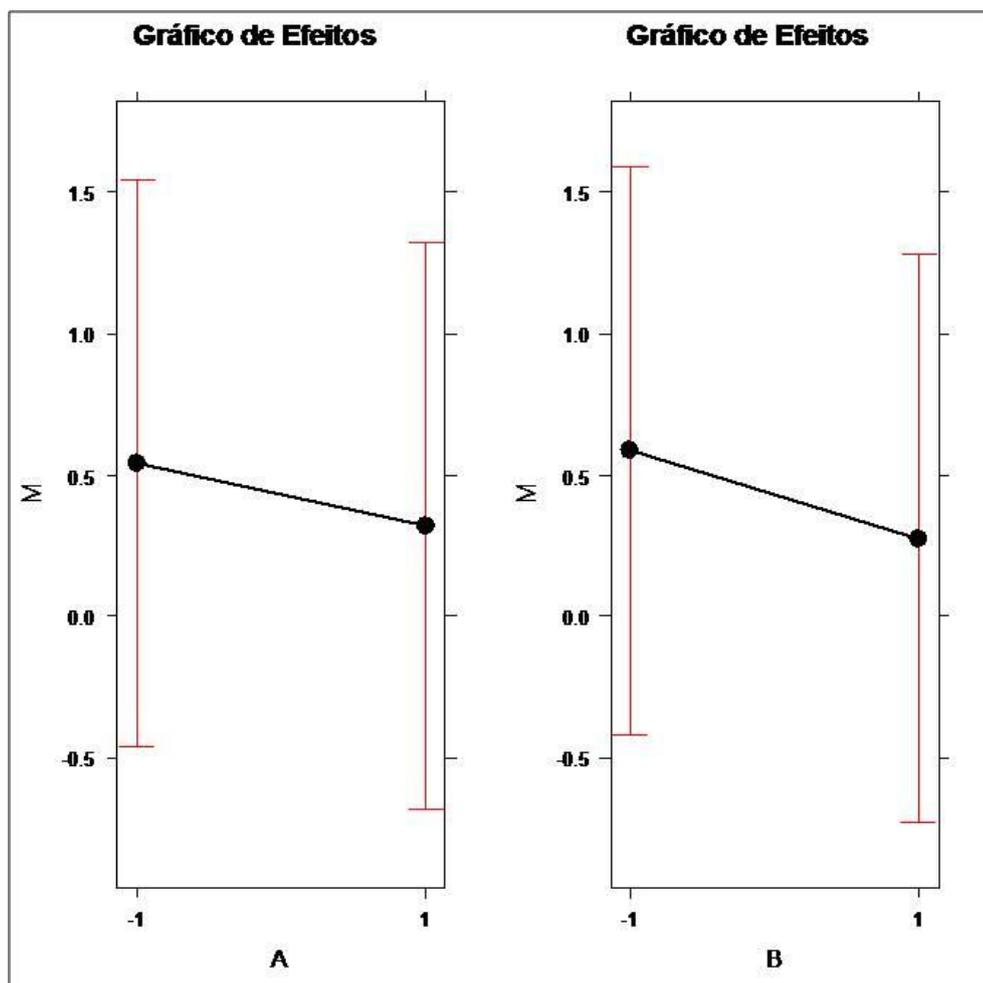
Após todos os cálculos demonstrados na tabela 10 é possível encontrar o t crítico, que serve como base para afirmar quais são os efeitos relevantes desse planejamento. Observa-se que o valor de t crítico é de 0,04138, e que todos os valores inferiores a este não apresentam relevância nas respostas dos ensaios. Contudo, todos os efeitos são superiores a esse valor, e influenciam diretamente as respostas dos ensaios.

5.3 INTERPRETAÇÃO GRÁFICA

Todos os valores apresentados nas tabelas descritas anteriormente serviram de base para montagem de uma análise gráfica dos experimentos realizados nesse trabalho. A figura 2 representa os efeitos dos ensaios, a figura 3 destaca o diagrama de contornos que equivale ao nível de extração que houve entre os ensaios demonstrando em forma de cores onde houve a maior e a menor extração. Já a figura 4, faz a demonstração da superfície de resposta em 3 dimensões.

O gráfico de efeitos representado pela figura 2 permite relacionar a média de todos os resultados dos níveis superiores e inferiores, possibilitando demonstrar onde houve a maior e a menor extração de lipídios quando se movia de um ensaio para outro (BARROS NETO, et al., 2001; PEREIRA FILHO, 2015).

Figura 2- Gráfico de efeitos

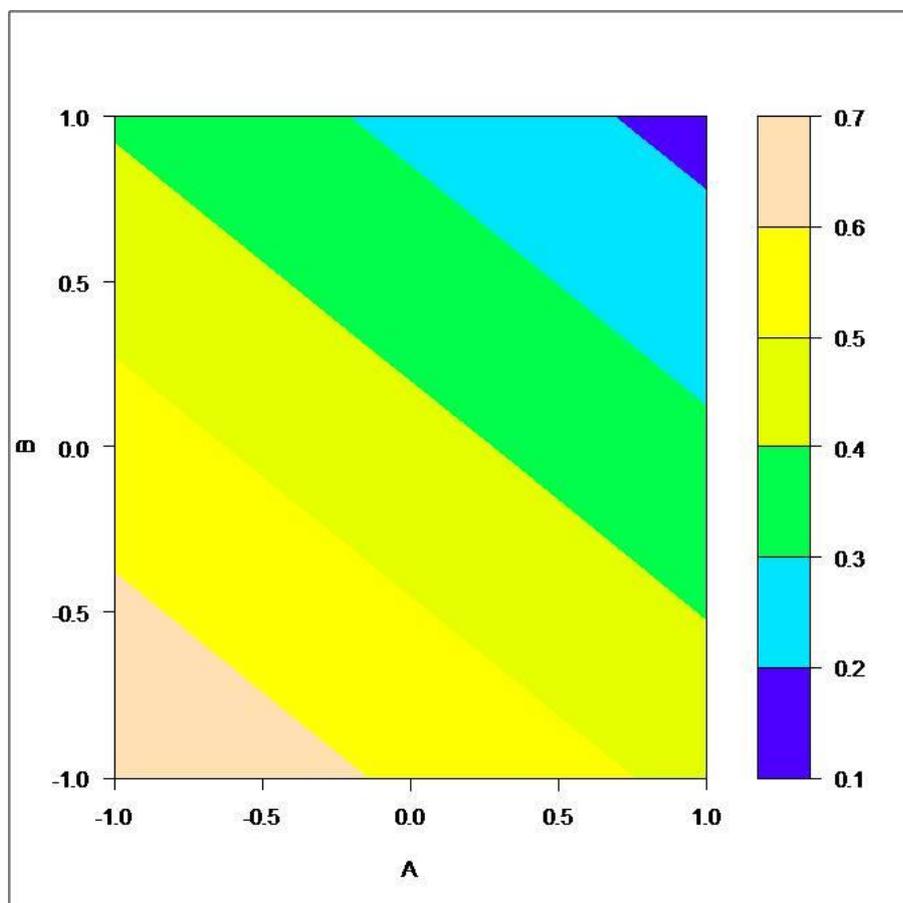


Fonte: Software Action Stat. Estatcamp

Em uma análise cuidadosa do gráfico acima (gráficos de efeito), nota-se que realizar alteração apenas da matriz analisada, que é o leite, partindo-se do leite in natura e deslocando-se na direção do leite UHT, há diminuição da resposta do experimento. O mesmo nota-se com a variável B, fazendo alteração do nível baixo (hexano) para o nível alto (éter), também há diminuição na mesma proporção.

Examinando o diagrama de contornos representado na figura 3, podemos observar que a região de maior extração é a rosa, quando tanto a variável A, quanto a B estão no nível baixo. Obteve-se maior extração utilizando o leite in natura (-1) com o solvente hexano (-1), e a menor extração se concentra na parte azul do mapa, que foi a extração utilizando o éter de petróleo (+1) como leite UHT (+1).

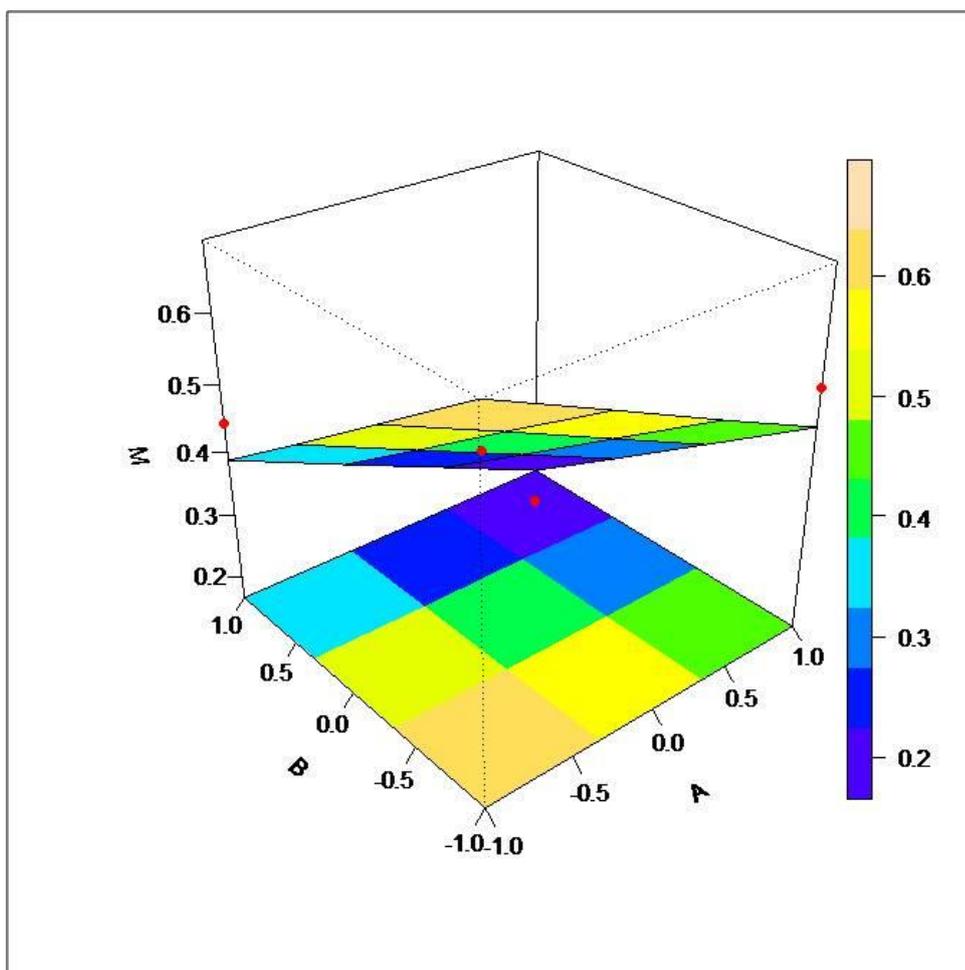
Figura 3- Diagrama de contorno



Fonte: Software Action Stat. Estatcamp

A área de resultado, figura 4, representa o diagrama de contornos em três dimensões.

Figura 4- Área de resultado



Fonte: Software Action Stat. Estatcamp

Numericamente a região rosada compreende ao ensaio 1, trata-se da extração de maior quantidade de lipídios, tendo em media extraído 0,6135 gramas, que representa a extração de lipídios do leite in natura utilizando o solvente hexano. A região que apresentou uma pequena quantidade de extração esta sendo demonstrada na coloração azul escura do gráfico, que representa os níveis inferiores para (A) e (B), trata-se do ensaio 4 (+1 ,+1), que representa o leite UHT com o solvente éter de petróleo, com a extração media de 0,11 gramas.

CONCLUSÃO

Planejamentos fatoriais em química têm sido cada vez mais empregados no Brasil. Realizar um delineamento experimental permitiu que fossem feitas comparações, mesmo que preliminares sobre as melhores condições de extração e quantificação de lipídeos pelo método Soxhlet. Através dessa técnica, pôde-se conhecer quais os experimentos são ideais para se realizar a extração desejada e concluiu-se que o experimento 1, extração de lipídeos do leite in natura com hexano, foi o mais eficiente, com massa de 0,6135, o que corresponde a 12,27% da massa inicial do leite in natura. Por outro lado, o experimento 4 foi o menos significativo, o que contemplou a extração de gordura do leite UHT com éter, obtendo uma massa de 0,110 gramas, o que corresponde a 2,2% da massa inicial de leite.

Por fim, pode-se concluir que o leite in natura apresenta maior quantidade de lipídeos do que o leite industrializado UHT, o que era um resultado esperado, pois o leite in natura não sofre nenhum tratamento físico-químico, permitindo que suas propriedades não sejam perdidas.

REFERÊNCIAS

NEYMEYR, K. A, et al,. On generalized Borgen plots. I: From convex to affine combinations and applications to spectral data Spectra, **Journal of Chemometrics** , 2015. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cem.2721/full> > acesso em: 12 de abril de 2017.

BARROS NETO B, et al. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2ª. Ed. Campinas: Unicamp; 2001.

BOLZAN, C. R. **Bromatologia**. Colégio Agrícola de Frederico Westphalen. III. Título, 2013. Disponível em:< http://estudio01.proj.ufsm.br/cadernos/cafw/tecnico_agroindustria/bromatologia.pdf> Acesso em: 05 de novembro 2016.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **legislação sobre qualidade do leite no Brasil**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2011. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/painelsetorial/palestras/legislacao-sobre-qualidade-do-leite-no-brasil-mayara-souza-pinto.pdf>> acesso em: 04 de novembro de 2016.

CECCHI, H. M. **fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas, São Paulo: Editora da Unicamp, 2003.

CELINE POMPÉIA, et al,. **Entendendo a gordura os ácidos graxos**, Editora: Manoele Ltda, 2002.

Chew Draw Ultra 12.0. Software Chew Draw. **Ferramenta de desenhos químicos**, 2017.

DÜRR, J. W. **produção de leite conforme a normativa N° 62, SENAR** Serviço Nacional de Aprendizagem Rural, 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/SENAR%20-%20Produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20leite%20conforme%20IN%2062.pdf> Acesso em: 04 de novembro de 2016.

Estatcamp, Software Action Stat. Estatcamp. **Consultoria em estatística e qualidade**. São Carlos (SP): Brasil; 2017.

FERREIRA, O. M. **Purificação da glicerina bruta obtida a partir da transesterificação do óleo de algodão**, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2009. Disponível em:<<ftp://ftp.ufrn.br/pub/biblioteca/ext/bdtd/MarcionilaOF.pdf>> acesso em: 21 de maio de 2017.

GALLO, A.L. **lipídios**, LCB 5 218 – Bioquímica Programa Teórico/Prático – 1º Sem. 2014. Disponível em:<http://biocolesterol.blogspot.com.br/2010_11_01_archive.html#> acesso em: 21 de maio de 2017.

GONZÁLES, D. H. F. **Composição Bioquímica do Leite e Hormônios Da Lactação**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS 2001. Disponível em:<<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26682/000324366.pdf?sequence=1>> acesso em: 17 de novembro de 2016.

GOULRT, C. F. **lipídios**, Universidade Estadual Paulista, 2014. Disponível em:<<http://www.marilia.unesp.br/Home/Instituicao/Docentes/FlaviaGoulart/lipidios.pdf>> Acesso em: 21 de maio de 2017.

HARDING, F. **milk quality**, academic professional, 1995. Disponível em:<<http://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4615-2195-2>> Acesso em: 22 de out. 2016.

LUTZ, I. **A. métodos físico químico para análise de alimentos**, procedimento e determinação gerais. Capítulo IV, 2008. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf> acesso em: 17 de novembro 2016.

MENEZES, S.E.M. et al., **A Química dos Alimentos: carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais**, Universidade Federal De Alagoas, 2005. Disponível em: <http://www.usinaciencia.ufal.br/multimidia/livros-digitais-cadernos-tematicos/A_Quimica_dos_Alimentos.pdf> acesso em: 22 de maio de 2017.

MOTTA, T. V. **Bioquímica Clínica para o Laboratório - Princípios e Interpretações**, Autolab, Análises Clínicas, 2009. Disponível em: <<https://docente.ifsc.edu.br/lucia.martins/MaterialDidatico/Bioqu%C3%ADmica/Textos/LIPIDIOS.pdf>> acesso em: 23 de maio de 2017.

MUNIZ LC, MADRUGA SW, ARAÚJO CL. **Consumo de leite e derivados entre adultos e idosos no Sul do Brasil: um estudo de base populacional**, Ciência & saúde coletiva, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/csc/v18n12/a08v18n12.pdf> > acesso em: 22 de outubro 2016.

PEREIRA FILHO ER. **Planejamento fatorial em química**: maximizando a obtenção de resultados. São Carlos (SP): Edufscar; 2015.

REDA, Y. S. **óleos e gorduras: aplicações e implicações**, Universidade Federal do Paraná, 2007. Disponível em: <<http://cursos.unipampa.edu.br/cursos/engenhariadealimentos/disciplinas/files/2008/04/art07.pdf>> acesso em: 21 de maio de 2017.

ROCHA, G. L. **influencia do tratamento térmico no valor nutricional do leite fluido**, Universidade Católica De Goiás, 2004. *Disonível em:* <<http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/8930/material/TC-Giulianna%20-%20INFLU%20ANCIA%20DO%20TRATAMENTO%20T%20C%20RMICO%20NO%20VALOR%20NUTRICIONAL%20DO%20LEITE%20FLUIDO.pdf>> acesso em: 04 de novembro de 2016.

SARCINELLI, F.M.; VENTURINI, S.K. **Características do leite**. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES 2007. Disponível em: <http://agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf> acesso em: 14 de novembro de 2016.

TEOFILO, Reinaldo F; FERREIRA, Márcia M. C, **Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial**. Química nova 2006, disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000200026> acesso em 10 de abril 2017.

USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos). **análise da conjuntura agropecuária**, Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento, 2014. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/bovinocultura_leite_14_15.pdf> acesso em: 22 de outubro 2016.

VICENZI, R. Apostila De Bromatologia, **Curso de Nutrição, 2004**.

VILETE, Jordonson Vieira; POLETO, Bruno de Oliveira; VIEIRA, Rafael. **extração de lipídeos da banana-da-terra utilizando ferramentas quimiométricas**. Revista Científica FAEMA, 2016. Disponível em: <<http://www.faema.edu.br/revistas/index.php/Revista-FAEMA/article/view/412>> acesso em 05 de março 2017.

VOLPE, O.L.P. et al. **Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial**. Departamento de Físico-Química - Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421999000500016> acesso em: 21 de maio de 2017.