



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**Pesquisa e Quantificação de Soro em Leite em Pó pelo
doseamento do Glicomacropéptido (GMP) por HPLC**

Engenharia das Ciências Agrárias – Ramo Animal
Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Iris Vladimira Cunha Lima Reto



CASTELO BRANCO

2002

Agradecimentos	I
Resumo	II
Abstrat	III
Lista de abreviaturas.....	IV
Índice de Quadros	VI
Índice de Figuras	VII
Índice	VIII

I – Introdução	1
-----------------------------	---

II - Pesquisa bibliográfica

1 –Caseínas	2
1.1. A micela caseínica e suas propriedades.....	4
1.2. As variantes genéticas da k-caseína	6
1.3.Coagulação do leite	7
1.4.GMP – Propriedades biológicas e nutricionais.....	8
2 – Cromatografia	10
2.1.Métodos cromatográficos	10
2.2.Fundamento teórico.....	12
2.2.1. Cromatograma	12
2.2.2.A eficiência de separação	13
2.2.2.1. Resolução	13
2.2.3.Altura dos pratos	15
2.2.4.Tempo final de equilíbrio entre as fases	16
2.2.5.Assimetria das bandas	17
2.3.Cromatografia líquida de alta eficácia (HPLC)	18
2.3.1.História do HPLC	18
2.3.2.Equipamento de HPLC	18
2.3.2.1.Bombas.....	19
2.3.2.2.Injector	20
2.3.2.2.1.Funcionamento do injector automático	20
2.3.2.3.Coluna	21
2.3.2.4.Detectores.....	23
2.3.2.5.Forno	25

III - Material e métodos	
1. Material – Sistema cromatográfico	26
1.1. Bombas	26
1.2. Injetor	27
1.3. Coluna	27
1.4. Forno	28
1.5. Detector	28
2. Cuidados a ter com o equipamento (HPLC)	30
2.1. Purga	31
2.2. Limpeza da coluna	31
3. Software de aquisição, processamento de dados	34
3.1. Início do programa	34
3.2. Criação de métodos	36
3.3. Criar uma “Sample set”	36
3.4. Criar um método instrumental	37
3.5. Método de processamento	37
4. Preparação de amostras de leite e lactosoro segundo Imbert. et al., 1993	39
4.1. Leite	39
4.2. Lactosoro	39
4.3. Leite em pó	39
5. Preparação das amostras analisadas neste trabalho	40
6. Cromatografia	41
7. Cálculos efectuados, referentes às áreas e percentagens de soro	42
IV - Resultados e Discussão	43
V – Conclusões	46
VI – Bibliografia	47

Resumo

Pretendeu-se com este trabalho, fazer a implementação de um método cromatográfico, para a detecção e quantificação de glicomacropéptido (GMP), no leite em pó.

O método cromatográfico seleccionado foi, o método de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficácia). A quantidade de soro adicionado ao leite em amostras adulteradas poderá assim ser calculada por integração da área dos picos de GMP, usando uma curva padrão preparada previamente com amostras adulteradas de composição conhecida ou por amostras 100% puras (de leite e de soro).

Foram estudadas, amostras de leite em pó adicionadas com cinco percentagens diferentes de soro em pó (1; 2,5; 5; 10; 20 %), e posteriormente foram analisados os picos referentes ao GMP A e GMP B.