

APLICAÇÃO DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA COMO TÉCNICA DE AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE LEITE BOVINO

APPLICATION OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING AS A TECHNIQUE FOR EVALUATING BOVINE MILK COMPOSITION

Giovana de Castro Ducatti¹ Jéssica Leite Fogaça² Michel de Campos Vettorato²
Rogério Antônio de Oliveira³ Ariane Dantas⁴ Laura Dantas França Teixeira⁵
Vânia Maria de Vasconcelos Machado⁶

RESUMO

O presente projeto tem por objetivo realizar a predição de parâmetros nutricionais de leite bovino por uso de ressonância magnética (RM). Serão avaliadas duas amostras de quatro marcas diferentes de leite esterilizado (UHT), sendo duas do tipo integral e duas do tipo desnatado, ambas provenientes do comércio local. Para realização das análises de RM foi utilizado aparelho Esaote[®] Vet - MR Grande, 0,25 Tesla de campo magnético com quatro canais de radiofrequência. Foi empregada sequências de pulso em planos de Spin eco T1 (SE-T1), Fast Spin eco T2 (FSE-T2) e a Short TI Inversion-Recovery (STIR) nos três planos de cortes Dorsal, Sagital e Axial. As imagens obtidas foram analisadas através do software Synapse[®]. Para a interpretação das imagens uma escala foi confeccionada para classificar o grau de intensidade da viscosidade e celularidade das amostras avaliadas, sendo considerado: ausente (0), baixo (1), médio (2) e alto (3). Foi realizado a frequência (contagem) e a porcentagem (%) dos dados obtidos, sendo empregado os testes do Qui-quadrado e o exato de Fisher, considerando-se as diferenças significativas P-valor < 0,05. Houve diferença para a viscosidade e celularidade apenas para as sequências de pulso em planos de FSE-T2 com a STIR, sendo o escore 1 o mais expressivo, refletindo o estado de fluidez e composição das amostras de leite avaliadas. Assim, o uso de RM apresenta-se como um método inovador e confiável para a detenção da qualidade do leite UHT.

Palavras-chave: Análise de alimentos, Diagnóstico por imagem, Leite bovino, Monitoramento da qualidade.

¹ Graduanda em Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pela Unesp - Botucatu/SP

² Doutora em Biotecnologia Animal pela Unesp - Botucatu/SP.

³ Docente do Departamento de Biodiversidade e Bioestatística do Instituto de Biociências pela Unesp - Botucatu/SP

⁴ Docente pela Etec Dona Sebastiana de Barros. Fazenda da Serra, s/nº - Zona Rural - CEP: 18650-970 - São Manuel/SP. e-mail: dantas.vet@gmail.com

⁵ Discente do Ensino Médio Integrado ao Técnico (MTEC) - Nutrição pela Etec Dr. Domingos Minicucci Filho - Botucatu/SP.

⁶ Docente do Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pela Unesp - Botucatu/SP

ABSTRACT

This paper aims to predict nutritional parameters of bovine milk through magnetic resonance imaging (MRI). Two samples of four different brands of sterilized milk (UHT) will be evaluated, two of whole type milk and two skimmed types, both from the local commerce. To perform the MRI analysis, an Esaote® Vet - MR Large device, of 0.25 Tesla magnetic field with four radiofrequency channels was used. Pulse sequences were used in Spin echo T1 (SE-T1), Fast Spin echo T2 (FSE-T2) and Short TI Inversion-Recovery (STIR) in three planes of Dorsal, Sagittal and Axial sections. Obtained images were analysed using Synapse® software. For image interpretations a scale was made to classify the degree of viscosity intensity and cellularity of the evaluated samples, considering absent (0), low (1), medium (2) and high (3). The frequency (counting) and percentage (%) of obtained data were performed, using chi-square and Fisher's exact tests, considering the significant differences P-value < 0.05. Results show difference for viscosity and cellularity only for pulse sequences in FSE-T2 planes with STIR, with score 1 being the most expressive, reflecting the state of fluidity and composition of the milk samples evaluated. Thus, the use of magnetic resonance is presented as an innovative and reliable method for the detection of the quality of UHT milk.

Keywords: Food analysis, Diagnostic imaging, Bovine milk, Quality monitoring

¹ Graduanda em Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pela Unesp - Botucatu/SP

² Doutora em Biotecnologia Animal pela Unesp - Botucatu/SP.

³ Docente do Departamento de Biodiversidade e Bioestatística do Instituto de Biociências pela Unesp - Botucatu/SP

⁴ Docente pela Etec Dona Sebastiana de Barros. Fazenda da Serra, s/nº - Zona Rural - CEP: 18650-970 - São Manuel/SP. e-mail: dantas.vet@gmail.com

⁵ Discente do Ensino Médio Integrado ao Técnico (MTEC) - Nutrição pela Etec Dr. Domingos Minicucci Filho - Botucatu/SP.

⁶ Docente do Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pela Unesp - Botucatu/SP

1 INTRODUÇÃO

O leite bovino é um produto complexo e nutritivo constituído por uma grande quantidade de proteínas, minerais e vitaminas, que conferem a esse alimento elevada qualidade nutricional, rendimento e melhor aproveitamento da fabricação de seus derivados, o que é de significativa importância econômica aos produtores (LAZAROTTO *et al.*, 2019).

O conhecimento dessa composição química é determinante na adequação para processamento e consumo humano. Dessa forma, o estudo da qualidade química do leite é fundamental, visto atender a demanda do atual consumidor, cuja exigências são crescentes (VERRUCK *et al.*, 2019). Sendo assim, a rotulagem dos alimentos deve ser fidedigna, já que orientará os consumidores quanto as suas escolhas nutricionais, levando em conta a qualidade e a quantidade dos constituintes nutricionais do produto (MORAES; FILHO, 2017).

A qualidade dos produtos alimentares é, atualmente, uma das maiores preocupações tanto no ramo de atuação profissional como científico. No entanto, diversos trabalhos realizados no país têm demonstrado inadequação desse alimento quanto a este aspecto (BANO, SAJJAD e KHAN, 2019). Deste modo, faz-se necessário a avaliação da aplicabilidade de técnicas mais criteriosas, que possam expandir o conhecimento quanto a qualidade desse alimento. Assim, a ressonância magnética (RM), técnica de diagnóstico por imagem, já consagrada na medicina humana, entretanto, de uso crescente na medicina veterinária, apresenta-se como uma ferramenta em potencial de avaliação de alimentos (FAN; ZHANG, 2019).

Com o uso da RM é possível obter essas informações porque núcleos atômicos de cada elemento químico do material absorvem energia em uma frequência e rádio específica, sendo possível diferenciá-los dentro de uma mesma molécula e fazer a distinção entre os sinais da água e gordura, permitindo inferir sobre a composição química das estruturas analisadas (BALTHAZAR *et al.*, 2021). Todavia, tal finalidade na medicina veterinária ainda é pioneira, visto que até o presente momento o número de estudos encontrado ainda é insuficiente. Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo avaliar aspectos gerais de qualidade do leite bovino por uso de Ressonância Magnética.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 10 unidades de 1 litro (embalagens) de cinco marcas conhecidas e diferentes de leite esterilizado (UHT), sendo cinco do tipo integral e cinco do tipo desnatado.

Foram utilizadas apenas marcas de leite que apresentavam o Selo de Inspeção Federal (SIF) (FIGURA 1). Para garantir a fidelidade dos testes, as amostras foram adquiridas em comércios de grande circulação na cidade de realização do projeto e para evitar a exposição do nome dos fabricantes no presente trabalho, as marcas foram identificadas pelas letras A, B, C, D, E e F.

Figura 1. Amostras de leite esterilizado do tipo integral (A) e desnatado (B) avaliadas



Fonte: Próprio Autor, 2023.

As embalagens de leite foram mantidas fechadas em suas embalagens originais e mantidas a temperatura ambiente até o momento da análise para certificação do estado de conservação dos produtos. Todas as amostras, em seus frascos ainda fechados, foram agitadas por aproximadamente 20 vezes para homogeneização e distribuição uniforme de seus constituintes. Posteriormente, as embalagens foram abertas e as amostras foram transferidas para garrafas desinfetadas de polietileno tereftalato, material esse mais resistente e indicado para as avaliações de ressonância magnética (RM) (FIGURA 2). Foi utilizado aparelho Esaote® Vet - MR Grande (Firenze, Itália), 0,25 Tesla de campo magnético equipado com quatro canais de radiofrequência.

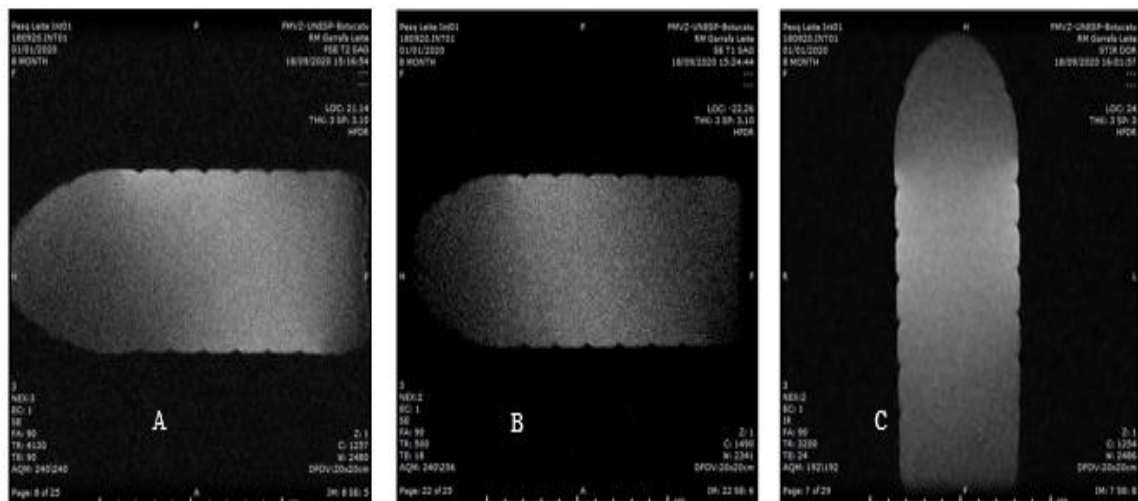
Figura 2. Avaliações de ressonância magnética das amostras de leite esterilizado (UHT)



Fonte: Próprio Autor, 2023.

Foram utilizadas sequência de pulso em planos de Spin eco T1 (SE-T1), Fast Spin eco T2 (FSE-T2) e a Short TI Inversion-Recovery (STIR), avaliados nos planos sagital, transversal e dorsal (FIGURA 3). Todo o experimento foi realizado a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. As imagens obtidas foram analisadas através do software Synapse[®] (Fujifilm Holdings Corporation, Tóquio, Japão). As imagens ultrassonográficas foram analisadas comparativamente por três avaliadores, em momentos diferentes, e seus resultados, posteriormente, confrontados. Foram considerados aprovados, após a concordância dos três avaliadores.

Figura 3. Sequência de pulso em planos de Spin eco T1 (A), Fast Spin eco T2 (B) e a Short TI Inversion-Recovery (C) das imagens de ressonância magnética das amostras de leite avaliadas



Fonte: Próprio Autor, 2023.

Na interpretação das imagens por RM foram consideradas as mensurações dos constituintes viscosidade e celularidade. Para isso foi elaborada uma escala numérica

classificada de acordo com o grau de intensidade das alterações observadas nas imagens, sendo considerado: ausente (0), baixo (1), médio (2) e alto (3).

Para a análise estatística dos dados obtidos foi realizado o cruzamento das variáveis categóricas (leite UHT integral e desnatado e tipos de marcas) com as variáveis respostas (viscosidade e celularidade) para calcular a frequência (contagem) e a porcentagem (%) observada nesta avaliação. As proporções foram testadas utilizando o teste do Qui-quadrado e o exato de Fisher, devido ao tamanho amostral, sendo considerado diferenças significativas quando apresentaram p-valor $< 0,05$ (SAS[®], 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença do leite desnatado e o integral para as características viscosidade e celularidade ($P>0,05$), sendo a maioria das notas de escore atribuídas ao número 1 (TABELA 1). A viscosidade do leite é a capacidade de fluidez que o alimento apresenta devida à fricção entre as partículas que o compõem. Como geralmente ela aumenta de acordo com o incremento da composição dessa substância, observa-se maiores valores em leites do tipo integral do que desnatado (1.6314 e 1.404 centipoises, respectivamente), pois o leite integral apresenta maior concentração de proteínas (em especial a caseína) e gordura (FOX *et al.*, 2015).

Nesse sentido, esperava-se encontrar diferenças para essa variável quando comparados os dois tipos de leite UHT, contudo, isso não ocorreu no presente trabalho, o que permite considerar que mesmo apresentando heterogeneidade em suas composições conforme constava em suas embalagens, os distintos teores de sólidos totais e de gordura não foram por si só capazes de influenciar a viscosidade aparente dos leites avaliados ou talvez possam não estar presentes nas quantidades exatas as indicadas nos rótulos dos produtos. Cabe ressaltar que para ter maior exatidão quanto a essas suposições, faz-se necessária a realização de análises físico-químicas mais específicas.

Tabela 1. Valores de frequência (contagem) e porcentagem (%) da viscosidade e celularidade de leite bovino desnatado e integral.

UHT	Viscosidade				Celularidade			
	0	1	2	3	0	1	2	3
Desnatado	1 11,1	5 55,6	1 11,1	2 22,2	0	4 44,4	3 33,3	2 22,2
Integral	5 23,8	7 33,3	7 33,3	2 9,5	0	11 52,4	8 38,1	2 9,5

(P>0,05)

Fonte: Próprio Autor, 2023.

O predomínio do escore 1 verificado para viscosidade tanto em leites desnatados como integrais (Tabela 1) são representativos da observação de substâncias muito aquosas, provavelmente devido a alto teor de umidade e seu efeito diluidor proporcionado (O'SHEA; O'CALLAGHAN; TOBIN, 2019), o que reforça a possibilidade de amostras apresentarem composições semelhantes e caracterizadas por possuírem baixa concentração de nutrientes. De acordo Rodrigues (2013), com a fluidez do leite é característica recíproca da viscosidade desse alimento, estando ambas relacionadas com o grau de concentração e composição do leite.

A celularidade do leite representa o conteúdo celular presente no alimento. Pode ser influenciada por vários fatores, como número de partos, estágio e frequências de lactação apresentadas, sendo observado redução da celularidade com o avançar da lactação e total de gestações e lactações desenvolvidas. A estação do ano também representa importante interferência, visto que a redução da quantidade de chuva em determinadas épocas do ano pode ter efeito no valor nutricional das pastagens. Dietas pobres em nutrientes, resultam em leites com baixa celularidade (LEIRA *et al.*, 2018). Porém, a mastite ainda é a principal causa do aumento da contagem de células somáticas no leite, sendo este aumento dependente da patogenicidade do agente (CHANDAN *et al.*, 2015).

Portanto, o baixo escore de celularidade observada no presente trabalho (TABELA 1) pode estar relacionada com amostras de leites oriundas de animais que se apresentavam dentro do período de vida útil de produção e ordem de lactação, que correspondem respectivamente a idade de no máximo 5 a 9 anos, equivalente da terceira a sexta cria e entre a terceira e quinta lactação. Vale ressaltar ainda que possivelmente foram criadas sob adequado manejo higiênico e instalações dada a baixa celularidade encontrada, o que permite inferir que se trata de amostras de leite de boa qualidade, estando de acordo com as exigências da Instrução Normativa 62 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, que rege a

qualidade físico-química, constituintes celulares e microbiológicos deste produto no Brasil (BRASIL, 2011).

Salienta-se o que os resultados obtidos de celularidade estão em concordância com os de viscosidade aparente encontrados no presente trabalho, pois o aumento nos níveis de um atributo está diretamente relacionado com acréscimos no outro. Segundo Talukder e Ahmed (2017), leites com baixas celularidade, são leites mais fluidos e desta forma, intimamente associados com a qualidade do leite.

Na Tabela 2 observa-se que não houve diferença perceptível entre as marcas analisadas, sendo atribuído escore 1 para viscosidade e celularidade na maioria das amostras avaliadas. A ausência de diferença e a constatação de baixo escore de viscosidade e celularidade independente da marca de leite UHT desnatado e integral e evidencia as deficiências na padronização do leite pelas indústrias, bem como reflete a necessidade de implantação de melhorias em programas de boas práticas agropecuárias, as quais devem estar ligadas ao conhecimento e atendimento de regras e de exigências legais (COSTA *et al.*, 2018), tais como aspectos de manejo, bem-estar animal, higienização de áreas e dos equipamentos entre outros, tendo em vista a fabricação de leites com característica adequadas de qualidade. Contudo, é importante considerar, também, que o tamanho amostral pode ter contribuído para a falta de diferença observada entre as marcas avaliadas.

Tabela 2. Valores de frequência (contagem) e porcentagem (%) da viscosidade e celularidade de leite bovino em diferentes marcas avaliadas

Marca	Viscosidade				Celularidade			
	0	1	2	3	0	1	2	3
A	1 33,3	2 66,7	0	0	0	2 66,7	1 33,3	0
B	1 33,3	2 66,7	0	0	0	2 66,7	1 33,3	0
C	0	0	1 33,3	2 66,7	0	0	1 33,3	2 66,7
D	0	0	1 33,3	2 66,7	0	2 66,7	1 33,3	0
E	0	1 100	0	0	0	0	1 33,3	2 66,7
F	0	0	1 33,3	2 66,7	0	2 66,7	1 33,3	0

($P > 0,05$)

Fonte: Próprio Autor, 2023.

Verificou-se diferença para as variáveis viscosidade e celularidade (TABELA 3) aferidas em sequências de pulso de distintos planos ($P < 0,01$). Contudo, não houve

unanimidade quanto ao escore dado pelos observadores para a característica viscosidade, sendo os de maior frequência os de valor 2 no plano SE-T1 (50%), 1 no FSE-T2 (70%) e 0 no STIR (60%). A celularidade apresentou maior concordância para o escore 2 (80%) no plano SE-T1 e 1 nos planos FSE-T2 e STIR (70 e 80%, respectivamente).

As variáveis analisadas no presente trabalho diferiram significativamente em relação ao nível de sequências de pulso, sendo o escore 1 o mais expressivo tanto nas sequências de pulso em planos de FSE-T2 como na STIR para a viscosidade e celularidade (TABELA 3), o que permite novamente inferir sobre o estado de fluidez e composição do leite.

Tabela 3. Valores de frequência (contagem) e porcentagem (%) da viscosidade e celularidade de leite bovino desnatado e integral nas sequências de pulso em planos de Spin eco T1 (SE-T1), Fast Spin eco T2 (FSE-T2) e a Short TI Inversion-Recovery (STIR)

Planos	Viscosidade				Celularidade			
	0	1	2	3	0	1	2	3
SE-T1	0	3	5	2	0	0	8	2
		30,0	50,0	20,0			80,0	20,0
FSE-T2	0	7	1	2	0	7	1	2
		70	10	20		70	10	20
STIR	6	2	2	0	0	8	2	0
	60,0	20,0	20,0			80,0	20,0	

($P < 0,01$)

Fonte: Próprio Autor, 2023.

Segundo Neto *et al.* (2019), o tempo de relaxação da FSE-T2 não é impactado pelo estado físico da amostra, sendo, portanto, mais utilizado em leites e produtos lácteos líquidos ou pastosos. Além disso, pelo uso da ferramenta STIR é possível a obtenção de uma boa estimativa da proporção de gordura sólida nos produtos, sendo indicativos da dinâmica molecular da gordura e da água no alimento (BENEDICT *et al.*, 2018).

4 CONCLUSÃO

O uso da Ressonância Magnética permitiu a detecção de leites UHT desnatados e integrais com baixa viscosidade e celularidade, podendo ser considerada uma técnica rápida, não invasiva e sensível para monitorar a qualidade do leite.

REFERÊNCIAS

- BENEDICT, Y. *et al.* Evaluation of sample preparation methods for NMR-based metabolomics of cow milk. **Heliyon**, v. 4, n. 10, p. 1-22, 2018. Disponível em: [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(18\)315706?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405844018315706%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(18)315706?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405844018315706%3Fshowall%3Dtrue)
- BALTHAZAR, C. F. *et al.* Nuclear magnetic resonance as an analytical tool for monitoring the quality and authenticity of dairy foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 108, p. 84-91, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224420307238>
- BANO, I.; SAJJAD, H.; KHAN, M. Z. Recognition of Adulteration in Milk: A Review. **Journal of Dairy & Veterinary Sciences**, v. 8, n. 5, p. 1-5, 2019. Disponível em: <https://juniperpublishers.com/jdvs/JDVS.MS.ID.555750.php>
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa n.º 62, de 29 de dezembro de 2011**. [Altera o caput, exclui o parágrafo único e insere os -1 1º e 3º, todos do art. 1º, da Instrução Normativa MAPA nº 51, de 18 de setembro de 2002]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 dez. 2011. Seção 1, p.6-11.
- CHANDAN, R. C.; KILARA, C.; SHAH, N. P. **Dairy Processing and Quality Assurance**. 2. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2015. 696 p.
- COSTA, H. B. A. *et al.* Programs for best dairy management practice in Brazil and their applications. **Journal of Cleaner Production**, v. 176, n. 1, p. 1026-1033, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652617329141>
- FAN, K.; ZHANG, M. Recent developments in the food quality detected by non-invasive nuclear magnetic resonance technology. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 14, p. 2202-2213, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2018.1441124>
- FOX, P. F. *et al.* **A Dairy chemistry and biochemistry**. 1. ed. Basingstoke: Springer Nature, 2015. 496 p.
- LAZAROTTO, W. *et al.* Leite no Brasil: aspectos gerais de qualidade. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 100, n. 1, p. 3050-3075, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/334836552_Leite_no_Brasil_aspectos_gerais_de_qualidade
- LEIRA, M. H. *et al.* Fatores que alteram a produção e a qualidade do leite: Revisão. **PUBVET**, v. 12, n. 5, p. 1-13, 2018. Disponível em: <http://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1124>
- MORAES, B. M. M.; FILHO, R. B. Mercado Brasileiro de Lácteos: análise do impacto de políticas de estímulo à produção. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 55, n. 4, p.

783-800, 2017. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/resr/a/JXYyQhJrdbhLk8dDyqpCzQJ/?lang=pt>

NETO, R. P. C.; RODRIGUES, E. J. R.; TAVARES, M. I. B. Single-shot measurement of solids and liquids T1 values by a small-angle flip-flop pulse sequence. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 57, p. 395-403, 2019. Disponível em:

<https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mrc.4858>

O'SHEA, N.; O'CALLAGHAN, T. F.; TOBIN, J. T. The application of process analytical technologies (PAT) to the dairy industry for real time product characterization - process viscometry. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 55, p. 48-56, 2019.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856418313122>

RODRIGUES, E. **Qualidade do Leite e Derivados. Processos, Processamento Tecnológico e Índices**. 1. ed. Niterói: Programa Rio Rural, 2013. 53 p.

SAS Institute. 2009. **Statistical Analysis System 2009**. Version 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC.

TALUKDER, M.; AHMED, H. M. M. Effect of somatic cell count on dairy products: a review. **Asian Journal of Medical and Biological Research**, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2017.

Disponível em: <https://www.banglajol.info/index.php/AJMBR/article/view/32030>

VERRUCK, S. *et al.* Dairy foods and positive impact on the consumers health. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 89, p. 95-164, 2019. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31351531/>