

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Detecção da origem das matérias graxas presentes em requeijões e  
similares encontrados no mercado**

**Ana Carolina Cancelliero**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência  
e Tecnologia de Alimentos**

**Piracicaba  
2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Ana Carolina Cancellero  
Engenheira de Alimentos

**Detecção da origem das matérias graxas presentes em requeijões e similares encontrados no mercado**

Orientadora:  
Prof<sup>a</sup>. Dra. **MARISA A. BISMARA REGITANO d'ARCE**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**Piracicaba  
2007**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Cancelliero, Ana Carolina

Detecção da origem das matérias graxas presentes em requeijões e similares encontrados no mercado / Ana Carolina Cancelliero. - - Piracicaba, 2007.  
70 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.  
Bibliografia.

1. Análise de alimentos 2. Glicerol 3. Isótopos estáveis 4. Laticínios – Controle de qualidade 5. Óleos e gorduras vegetais comestíveis 6. Requeijão – Controle de qualidade  
I. Título

CDD 637.352

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**

À minha família, em especial aos meus pais, que sempre me apoiaram e me incentivaram, **DEDICO**.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida.

Aos meus pais, pelo incentivo, dedicação e oportunidade da realização desse estudo.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marisa Aparecida Bismara Regitano d'Arce, minha orientadora, pelo apoio, colaboração, incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. Jean Pierre Henry Balbaud Ometto, meu co-orientador, pela proposta e colaboração na realização desse trabalho, amizade e dedicação.

Ao Prof. Dr. Jorge Oishi (UFSCar), pelo auxílio prestado com os conhecimentos de estatística.

Às técnicas de laboratório, Maria Antonia Zambetta Perez (CENA) e Maria Fernanda de Almeida Prado (ESALQ), pela ajuda nas análises, dedicação e, principalmente, pela amizade e bons momentos vividos.

À Karina Maria Cancellero, pela grande colaboração nesse trabalho.

À bibliotecária Beatriz Helena Giongo pelo auxílio nas pesquisas bibliográficas.

Às amigas do curso de pós-graduação Vanessa Daniel Groppo, Fabiana Andrea Gobbo Nogueira e Aline Cristina Garcia de Oliveira, pela grande amizade, incentivo e sugestões.

Aos colegas de laboratório, pelo convívio e pelos bons momentos compartilhados.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT .....	8
1 INTRODUÇÃO .....	9
2 DESENVOLVIMENTO .....	10
2.1 Mercado brasileiro .....	13
2.2 Processamento .....	15
2.3 Tendências de produtos lácteos.....	18
2.4 Estudos relacionados com requeijão.....	19
2.5 Novas tecnologias .....	22
2.6 Considerações sobre o uso de gordura vegetal em requeijão .....	23
2.7 Evolução e tendência .....	24
2.8 Óleos e gorduras.....	24
2.9 Determinação isotópica .....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 Levantamento dos produtos lácteos existentes no mercado.....	31
3.2 Material.....	31
3.3 Padrões para os experimentos.....	33
3.4 Calibração do equipamento e metodologia .....	33
3.5 Delineamento experimental.....	33
3.6 Extração da fração lipídica dos produtos lácteos .....	34
3.7 Hidrólise de glicerídeos .....	34
3.8 Sistema de resfriamento efetivo em destilação bulbo-a-bulbo .....	34
3.9 Determinação isotópica .....	35
3.10 Análise estatística .....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1 Padrões: óleos de soja e milho, leite e creme de leite .....	37
4.2 Calibração: especialidade láctea com requeijão cremoso e requeijão cremoso .....	41
4.3 Experimento (requeijão cremoso e similares) .....	43

5 CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS.....	54
ANEXOS .....	61



## RESUMO

### **Deteção da origem das matérias graxas presentes em requeijões e similares encontrados no mercado**

O objetivo desse estudo foi validar a aplicação da metodologia isotópica de identificação da origem dos glicéris em gorduras presentes em requeijões e especialidades lácteas com o intuito de oferecer uma ferramenta de controle de qualidade, de fiscalização de mercado e deteção de fraudes. Para atingir esse objetivo, isolou-se o glicerol de compostos lácteos como requeijões, especialidades lácteas, leite e óleos vegetais (empregados como padrões de origem animal e vegetal, respectivamente) e aplicou-se a metodologia isotópica. O glicerol foi isolado através da centrifugação. Foram analisadas todas as marcas de requeijões e similares (28 marcas) disponíveis nos supermercados da cidade de Piracicaba, e depois, agrupadas conforme sua identificação: requeijão cremoso, especialidade láctea com requeijão cremoso, alimento à base de requeijão e creme vegetal, requeijão cremoso com amido e não identificado. Do total, cinco marcas apresentaram resultados com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparados ao controle (padrão animal – leite). A metodologia isotópica permitiu identificar a origem do material analisado e detectar alterações nos padrões. Comprovou-se a eficácia da metodologia isotópica na identificação da origem da matéria graxa de requeijões e a aplicabilidade da técnica no controle de qualidade de lácteos, auxiliando tanto no recebimento de matéria-prima como de produto final.

Palavras-chave: Requeijão; Especialidade láctea; Metodologia isotópica; Glicerol; Controle de qualidade

## ABSTRACT

### **Detection of the origin of the fat ingredients in Brazilian soft cheeses (requeijões) and similar products from the local market**

The objective of this study was to validate the application of the isotopic methodology of identification of glycerol origin in the fat fraction of “requeijões” (Brazilian soft cheeses) and similar products aiming at the identification of a quality control instrument for market fiscalization and fraud detection. In order to pursue the specific objectives of this study, the glycerol was isolated from spreadable dairy products such as “requeijões” and others. Cow’s milk and vegetable oils of known origins were adopted as standards. The isotopic methodology was applied to identify the origin of the carbon present in the glycerol molecule of the fats present in those foods. Glycerol was isolated according to a conventional based on centrifugation. Twenty-eight commercial brands of “requeijões” available in the supermarkets of Piracicaba city were classified according to the information provided in the labels and analyzed. Out of the total, 5 brands were significantly different ( $p < 0,05$ ) when compared to the control (animal pattern - milk), indicating absence of the milk fat in the formulation. The isotopic methodology allowed to identify the origin of the analyzed material and to detect alterations in the patterns. The effectiveness of the isotopic methodology in the identification of origin of the lipid constituents of “requeijão” was proven as well as the applicability of the technique in dairy industry quality control, both in the final product as well as in process supplies.

Keywords: “Requeijão”; Soft cheese, Isotopic methodology; Glycerol; Quality control

## 1 INTRODUÇÃO

Com o passar do tempo, as indústrias investem mais nas novas tecnologias, com o intuito de inovar seus produtos e ser competitiva no mercado, além de sempre visar o lucro. Com isso, aumenta a oferta de novas categorias de produto, gerando uma diversificação no mercado e mantendo a fidelidade do consumidor à marca associada à dinamicidade do mundo moderno. Todavia, em consequência, os produtos originais ou tradicionais perdem seus postos de mais consumidos, por questões de preço, novidade, inovação, entre outros motivos.

Atualmente, um exemplo dessa nova categoria é a “especialidade láctea à base de requeijão”, que vem ganhando espaço nas gôndolas dos estabelecimentos comerciais com o objetivo de substituir o tradicional requeijão. Porém, muitos consumidores ainda não perceberam a inserção desse novo produto no mercado e continuam consumindo-o como requeijão, porém há aqueles mais atentos que já observaram essa diferença não apenas através do rótulo, mas também pelo sabor.

Neste contexto, as pessoas precisariam ser esclarecidas e os fabricantes deveriam informar adequadamente essa nova categoria do produto presente no mercado, deixando a critério do consumidor optar pelo produto desejado e de seu conhecimento. Vale ressaltar que a fiscalização deveria ter meios de proteger o consumidor nesses casos.

Com relação a métodos analíticos, os quais permitem identificar a origem dos ingredientes alimentícios, deveriam fazer parte dos procedimentos de controle de qualidade dos produtos de mercado. Contudo, o custo da análise e a falta de mais trabalhos que endossem a sua adoção podem representar um problema a ser superado.

Nesse sentido, o presente trabalho, o qual enfocou o requeijão e seus similares, se propôs a dar a sua contribuição utilizando a metodologia isotópica, que vem sendo utilizada no controle de qualidade de alguns produtos alimentícios em vários países. Destaca-se que essa metodologia permite identificar a composição de isótopos estáveis com a utilização de um espectrômetro de massa, sendo que no Brasil, já existem estudos realizados em alimentos para verificar possíveis adulterações ou identificação da origem de algumas bebidas.

## 2 DESENVOLVIMENTO

O leite e seus derivados são importantes fontes de nutrientes, sendo considerados os principais fornecedores de cálcio biodisponível necessário para a formação de massa óssea (CAMPOS et al., 2003). Um importante derivado lácteo é o requeijão cremoso, com consumo crescente desde a década de 90. Atualmente, um novo produto similar, concorrente do requeijão, denominado especialidade láctea foi lançado no mercado e ainda está sem legislação específica. Devido às características organolépticas do requeijão e de sua aceitabilidade, surgem novas tecnologias e pesquisas direcionadas a este derivado do leite, com a finalidade de aumentar a demanda e agregar valor ao produto, pela inserção de diferentes sabores, adição de fibras, UHT (Ultra High Temperature), entre outros.

Muitos alimentos são adulterados por razões econômicas, através da utilização de um componente mais barato, mas com gosto e aparência semelhantes aos do produto original. Muitas vezes, na composição dos produtos há a presença de ingredientes que não estão especificados no rótulo, ou não são permitidos pela legislação, porém seria importante e justo o fornecimento dessas informações ao consumidor.

É importante ressaltar que o preço inferior de um produto nem sempre significa promoção. Muitas vezes, o que o consumidor adquire é um produto similar e não o original, e nem sempre é aquele o produto que o consumidor tinha a intenção de comprar. Portanto, é necessário ler atentamente o rótulo de qualquer mercadoria.

Os produtos similares estão no mercado há algum tempo e já causaram muita polêmica. De acordo com Marchiori (2005), desenvolver produtos novos estimula a competitividade e coloca as empresas em evidência, criando novas categorias de produtos. Embora positivo, também existe seu lado ruim, pois as empresas, em nome do lucro fácil e aumento da produção, levam à extinção o produto de origem. Outro problema das novas categorias é como a mensagem é apresentada ao consumidor, pois muitas vezes é mal explicada, enganosa, além da exclusão do produto tradicional por questões de custo. Outro ponto importante é o rótulo, que deveria ter um tamanho de

letra maior, permitindo uma fácil leitura, e assim identificar que aquele é um novo produto.

Um produto que, infelizmente, está sofrendo pressão de mercado pelo preço é o requeijão (queijo tipicamente brasileiro), o qual foi substituído pelas “especialidades lácteas”. Marchiori (2005) destaca que esses produtos geralmente têm similaridade na aparência, na embalagem, nas palavras-chave da embalagem e preços semelhantes aos dos produtos originais, sendo que o preço inferior incentiva os consumidores, desavisados e desatentos, a optarem por tais produtos. Além do lucro e aumento da produção dos fabricantes de requeijão, eles passaram a utilizar gordura vegetal e amido como base não láctea, ao invés do leite como base láctea, tornando o produto acessível aos consumidores de menor poder aquisitivo, mas com sabor semelhante ao do requeijão. Com relação à especialidade láctea, esta é uma mistura de queijo cremoso similar ao requeijão, sendo que há diferença na formulação dos produtos, conforme mostra a tabela 1. Esse produto chegou ao mercado para concorrer com o requeijão cremoso em função de características semelhantes como sabor, cremosidade, cor e aspecto, além de embalagens similares (REQUEIJÃO CREMOSO E ESPECIALIDADE LÁCTEA, 2004).

Tabela 1 – Diferenças entre requeijão cremoso e especialidade láctea

<b>REQUEIJÃO CREMOSO</b>	<b>ESPECIALIDADE LÁCTEA</b>
Leite ou Leite Reconstituído, Proteína Láctea	Leite ou Leite Reconstituído, Proteína de Origem não Láctea
Creme, Manteiga ou Gordura Anidra de Leite	Creme, Manteiga ou Gordura Vegetal
Estabilizantes permitidos (Polifosfatos e Citratos)	Amido, Espessantes, Estabilizantes
Umidade Máxima Permitida = 65%	Umidade Máxima = não regulamentada

Fonte: Requeijão cremoso e especialidade láctea (2004).

A polêmica estabeleceu-se, pois consumidores incautos podem estar comprando o produto baseado no menor preço sem se atinarem na diferença de formulação entre os dois produtos, pois o “produto substituto” do requeijão cremoso, denominado, até o final de 2005, “especialidade láctea”, é comercializado, na sua grande maioria, em potes

de 200g. O objetivo dos fabricantes foi, e continua sendo, alcançar outras faixas de consumidores, os de menor renda, o que seria legítimo se não fosse a semelhança entre as embalagens do requeijão cremoso autêntico e da especialidade láctea (VAN DENDER, 2006a).

Em setembro de 2006, o Inmetro (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) observou e ressaltou em sua pesquisa, a similaridade entre o requeijão e a especialidade láctea à base de requeijão, fato que pode fazer o consumidor se confundir. O consumidor simplesmente vem adquirindo a especialidade láctea ao invés do requeijão sem perceber esta troca, porque as informações não estão evidentes na embalagem e no rótulo do produto. Além disto, a especialidade láctea à base de requeijão vem sendo comercializado nos supermercados no mesmo espaço destinado ao requeijão, apresentando ainda, um preço similar ao do requeijão, ou seja, para o consumidor não são apresentados indícios claros de que se trata de um outro produto (INMETRO, 2007).

Portanto, o que diferencia tais produtos é a formulação, pois o requeijão tem como base o leite, enquanto que a especialidade láctea utiliza amido e gordura vegetal, e, às vezes, concentrado protéico do soro, sendo a base não láctea. As diferenças que confundem o consumidor na escolha do produto podem ser vistas na tabela 2.

Tabela 2 – Diferenças que confundem consumidor

---

**Requeijão Cremoso** em copo é um produto à base de leite desnatado, creme de leite, fermento lácteo e conservantes. Em média, utiliza-se 1,25 litros de leite para compor um copo de requeijão cremoso de 250g.

**Composto lácteo:** possui em sua formulação ingredientes como massa coalhada, creme de leite, espessante, amido modificado de milho e gordura vegetal hidrogenada. Este produto mantém suas características ao fornecimento.

**Especialidade láctea:** produto com soro de leite, amido, gordura vegetal, fermento lácteo, estabilizantes e conservantes. Até o momento, não há regulamentação técnica para esse produto.

---

Fonte: Marchiori (2005).

De acordo com a portaria 359, de 4 de setembro de 1997 do Ministério da Agricultura, que define o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão, a denominação do requeijão cremoso está reservada ao produto no qual a base láctea não contenha gordura e/ou proteína não láctea. Requisitos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais também são estabelecidos visando preservar as características e qualidade do requeijão (BRASIL, 2005). Os requeijões com adição de gordura vegetal ou com teor reduzido de gordura deverão seguir a Portaria nº 521 de 17/10/1997 do Ministério da Saúde (NOVA LEGISLAÇÃO DE PRODUTOS LÁCTEOS, 2002). Com relação à lei, esta não permite denominar “requeijão” a especialidade láctea ou produtos cuja base não seja láctea, através da adição de gordura e/ou proteínas de origem vegetal ou com teor de gordura reduzido. Segundo Marchiori (2005), esse segmento tem crescido nos últimos anos, devido à possibilidade de introduzir ingredientes não permitidos para o requeijão. Com isso, as empresas do setor fabricam uma enorme gama de aditivos para a aplicação tanto no requeijão como nas especialidades lácteas.

O *marketing* das empresas conseguiu transmitir que o novo produto é superior ao original, pois quando se lê “especialidade láctea com requeijão” o nome “especialidade” associa-se a especial, e “com requeijão”, parece que é superior ao tradicional, o que não condiz com a verdade. Quem lucra com essa idéia passada ao consumidor através da propaganda é o fabricante, pois vende o produto como requeijão, mas com qualidade inferior. Por isso que o consumidor precisa ser esclarecido, para não adquirir um produto pensando que seja o original (MARCHIORI, 2005).

Segundo Fronza et al. (2001), a identificação inadequada ou incorreta nas embalagens de alimentos é o maior problema atual no mundo industrial, o qual causa considerável perda econômica para ambos os produtores e consumidores.

## **2.1 Mercado brasileiro**

Com relação ao mercado de queijo e produtos lácteos, a produção brasileira aumentou, e com isso a produção do requeijão também, sendo esse produto o terceiro classificado nesses anos.

Quando se comparam as produções de derivados lácteos nos anos de 1993 e 2000, pode-se perceber que o produto requeijão mantém a mesma fatia do percentual do total nesse espaço de sete anos, isto é, do total produzido em 1993 (190,7 toneladas), 11,90% (22,7 toneladas) foi de requeijão; e do total produzido em 2000 (375,1 toneladas), 11,92% (44,7 toneladas) foi de requeijão. Com relação ao tipo de utilização do requeijão, a diferença de percentual é representada por 29,2% de requeijão culinário e 15,8% de cremoso entre os anos de 2000 e 2004, segundo dados da EMBRAPA (2006).

Segundo Van Dender (2006a), o Brasil era um país essencialmente importador de produtos lácteos quando em 2004 começou a equilibrar a balança comercial diminuindo para um terço suas importações em relação a 2002 e mais que dobrando suas exportações de 2002 para 2004. Embora esses números pudessem ser muito melhores, levando-se em conta o potencial da pecuária leiteira no Brasil, um fato muito relevante ocorreu nesses dois anos, que foi o aumento da exportação de produtos com maior valor agregado, acarretando uma aceleração muito maior nos valores das exportações do que no próprio volume.

Com relação ao requeijão especificamente, segundo Van Dender (2006a), nos últimos anos, a produção brasileira de queijos processados aumentou consideravelmente, destacando-se o requeijão cremoso, que pode ser considerado um tipo de queijo fundido cremoso. Esta evolução se manifesta, sobretudo no aumento da produção total deste tipo de queijo, englobando os queijos fundidos, requeijão culinário e o requeijão cremoso, segundo dados da ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (2006), representando um aumento de aproximadamente 83,95% em 8 anos. O requeijão é um queijo tipicamente brasileiro, originário de fabricações caseiras, como uma forma de aproveitamento do leite coagulado espontaneamente devido à ação da microbiota láctica natural do leite. É fabricado a partir de leite desnatado cru ou pasteurizado, com ou sem adição de culturas lácticas, sendo a utilização do leite desnatado uma prática proveniente da época em que a manteiga era o derivado mais valorizado do leite. Assim sendo, pequenas fábricas semi-artesanais que dispunham de uma desnatadeira separavam o creme e o leite desnatado resultante era deixado



coagular espontaneamente para obter a massa que era então transformada em requeijão (VAN DENDER, 2006a).

## 2.2 Processamento

Silva e Fernandes (2003) afirmaram que para fabricar o requeijão utiliza-se leite desnatado ou integral, sendo que o fermento é adicionado, e o leite é fermentado até o dia seguinte (aproximadamente 18 horas). Quando se utiliza o leite cru, não há necessidade da adição de fermento, o leite apenas permanece em repouso, em latões ou tanque próprio, por aproximadamente 10 horas à temperatura ambiente (20°C), sendo que no fim se obterá uma coalhada distinta. A massa obtida é aquecida lentamente até 45°C, sob agitação constante e com isso, haverá separação do soro bem visível. Após atingir a temperatura desejada, a massa é coada em um tecido e lavada com água (35°C) em quantidade equivalente ao volume do soro retirado. Esse processo de lavagem é realizado até a acidez ser inferior a 5°D. Para se obter um requeijão com 60% de umidade e 29% de gordura, utilizando-se uma massa com 40% de sólidos totais e creme com 50% de gordura, recomenda-se a formulação conforme tabela 3.

Tabela 3 – Formulação do requeijão

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidade</b>
Massa	16 kg
Creme	25 kg
Sal	500 g
Sal fundente (fundente + corretor)	400 g
Ácido sórbico	35 g
Água	3 litros

Fonte: Silva; Fernandes (2003).

De acordo com Silva e Fernandes (2003), os ingredientes secos são adicionados à massa no interior do tacho e misturados por 30 segundos. A escolha do sal fundente é de acordo com sua capacidade emulsificante e poder de deslocamento do pH e a massa é fundida por aquecimento até atingir 80°C. A partir dessa temperatura, adiciona-se

água e creme quente e continua o aquecimento até 90°C. O ponto do requeijão é atingido em pouco tempo, porém a manutenção a 95°C por alguns minutos é recomendada para se evitar a “supercremificação”, que é um fenômeno que acarreta num defeito grave de fabricação e é irreversível, pois a gordura e a água que estão retidas na emulsão separam-se e o produto final apresenta consistência muito firme (VAN DENDER, 2006a). A seguir ocorre o envase do produto em copos já sanitizados, em solução de cloro, e a inversão desses é realizada com a finalidade de evitar o crescimento de leveduras na tampa. O requeijão é resfriado rapidamente e armazenado em câmara de estocagem (4°C) até a comercialização. O processo do produto está representado na figura 1 (SILVA; FERNANDES, 2003).

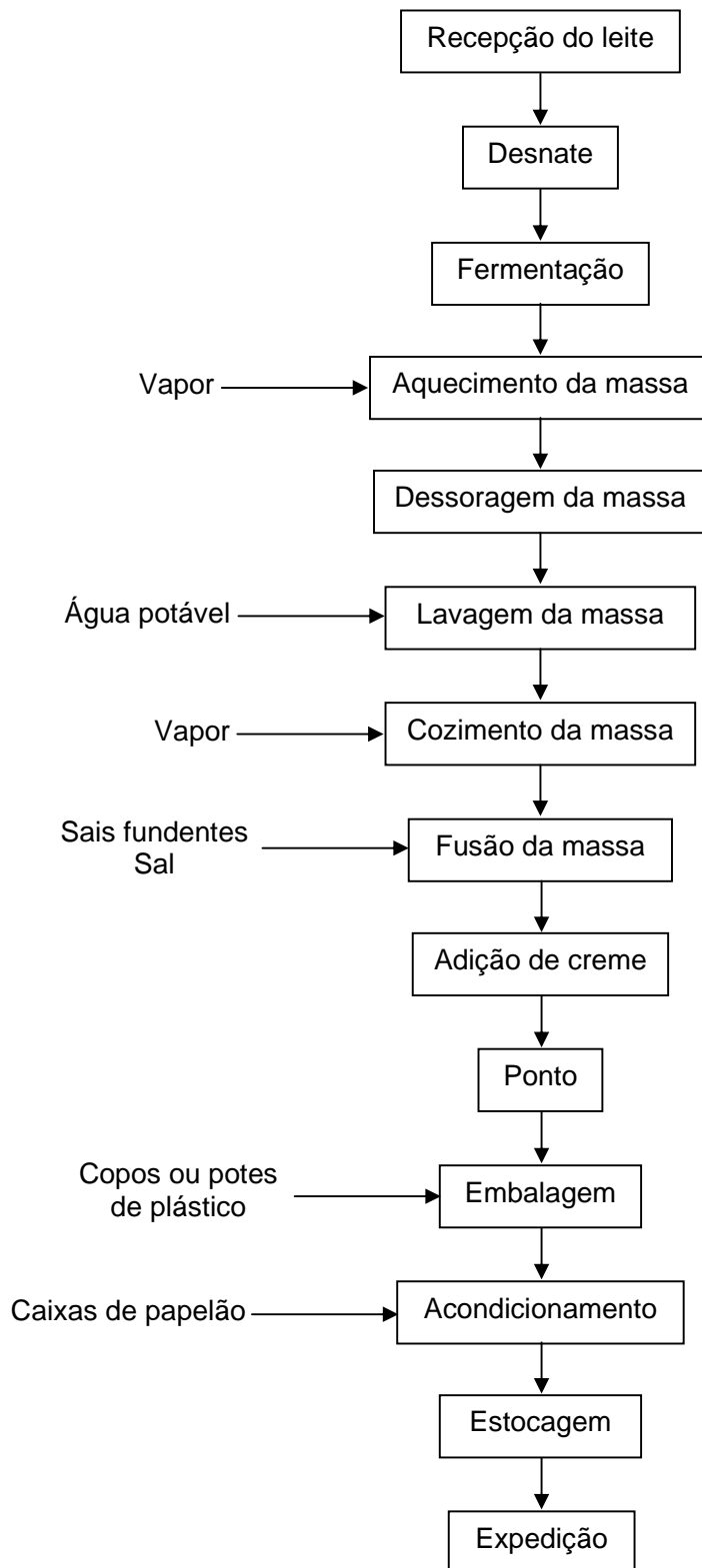


Figura 1 – Fluxograma de produção de requeijão (SILVA; FERNANDES, 2003)

### 2.3 Tendências de produtos lácteos

Segundo dados do IBGE (1998), o setor de derivados incluía poucos produtos, como leite, iogurte e requeijão. Entretanto, o mercado já vem sentindo a introdução de outros derivados do leite na pesquisa da FIPE – Fundação Instituto de Pesquisas Econômicas (1999), como bebidas lácteas, leite aromatizado, leite fermentado, queijos *petit-suisse*, sobremesas lácteas entre outros. Hoje em dia, há uma grande variedade de produtos e de diferentes marcas no mercado, considerando também uma evolução das embalagens (vidro, lata, plástico e longa vida) e as inovações de uso.

Os queijos também seguiram a mesma tendência de diversificação, podendo ser encontrados o queijo minas frescal pasteurizado, cremoso, catupiry, além de embalagens em porções de diferentes tamanhos atendendo às necessidades dos consumidores. O consumo de queijos aumentou 32% entre 1975 e 1988, apresentando queda na década de 90, devido ao aumento do leque de opções de outros derivados do leite mais acessíveis. Os requeijões, que não constavam na pesquisa do IBGE, apareceram na década de 90 com aumento de 69% em relação à década de 80. Este aumento atraiu empresas que têm fabricado o produto também em diferentes sabores: salmão, ervas finas, cremoso, além de empregar embalagens reutilizáveis (ITO, 2003).

São listados 85 produtos de leites e derivados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – USP. Entretanto, as empresas deste setor estão continuamente lançando novos produtos devido à concorrência de mercado e ao crescente consumo nos últimos anos (ITO, 2003). Segundo Marchiori (2005), o ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos desenvolveu linhas de pesquisas para queijos fundidos, sendo algumas com ênfase no requeijão cremoso. Os trabalhos desenvolvidos no instituto envolvem tecnologia de fabricação do produto, abrangendo desenvolvimento de formulações, processos de fabricação, usos de diferentes tipos e concentrações de sais fundentes, avaliação do emprego de embalagens, uso de ultrafiltração, caracterização física, química, bioquímica, microbiológica e sensorial que contribuem para a grande diversidade de produtos.

Diversos projetos sobre processamento de requeijão cremoso já foram concluídos e outros estão sendo desenvolvidos no ITAL com o objetivo de estudar as mudanças físico-químicas, bioquímicas e reológicas que ocorrem na fusão, bem como buscar

informações do referido produto, como por exemplo, os diferentes métodos de obtenção da massa e algumas alternativas de processo e de embalagem. Tem-se estudado também a estabilidade do produto durante a estocagem com e sem exposição à luz, a variação no teor de gordura do produto e o desenvolvimento de produto funcional, dentre outros (VAN DENDER, 2006a).

#### **2.4 Estudos relacionados com requeijão**

Estudos pioneiros sobre a fabricação de requeijão cremoso usando leite de búfala de massa obtida por precipitação ácida e a quente foram realizados no ITAL em 1979 e 1980, num processo semelhante ao utilizado para fabricar o Queijo Branco Latino-Americano. Os autores verificaram que o aparecimento de coloração fortemente esverdeada na massa tratada com ácido e calor mostrou-se pouco perceptível no requeijão cremoso final, devido à adição de creme e água durante o processo. O produto obtido apresentou aparência brilhante, apreciável untabilidade e sabor e odor característicos. De modo geral, mostrou-se física e quimicamente estável, com excelentes características organolépticas. Concluiu-se, portanto, que do ponto de vista tecnológico o leite de búfala era perfeitamente adequado à fabricação de requeijão cremoso. Além disto, o rendimento do processo é maior do que para o leite de vaca, devido, principalmente, ao maior teor de gordura presente no leite de búfala (FERNANDES et al., 1979; FERNANDES et al., 1980).

Um estudo realizado no TECNOLAT/ITAL, em 1997, comparou as características físicas, químicas e o grau de desmineralização das massas obtidas por fermentação láctica do leite usando fermento láctico acidificante composto de *Lactococcus lactis ssp lactis* e *Lactococcus lactis ssp cremoris* e por acidificação direta a quente com adição de ácido láctico ao leite aquecido a 80°C. Além disso, também foram comparadas as características físicas, químicas, reológicas e sensoriais dos requeijões cremosos fabricados com as referidas massas. Foram utilizados em cada formulação dois tipos de sal fundente à base de polifosfatos de sódio (VAN DENDER, 2006a).

Os dois tipos de sais fundentes utilizados aumentaram o pH das amostras de requeijões obtidas por meio dos dois processos à medida que se aumentou a quantidade adicionada dos referidos sais. De modo geral, os requeijões processados

com massa obtida por acidificação direta apresentaram maiores conteúdos de minerais (Ca, Mg, P e Na) do que os requeijões com massa obtida por fermentação láctica, devido ao menor grau de desmineralização que a primeira sofreu durante a etapa de acidificação. A avaliação sensorial das amostras de requeijão quanto aos parâmetros aparência, textura, sabor e aroma revelou que os tipos de sais fundentes pouco influenciaram as características sensoriais. A principal influência foi devido ao tipo de processo. Requeijões fabricados com massa obtida por fermentação láctica foram mais caracterizados pelo sabor ácido e fermentado, enquanto que requeijões processados com massa obtida por acidificação direta a quente foram caracterizados pelo sabor doce (RAPACCI, 1997; RAPACCI; VAN DENDER, 1998).

Segundo Van Dender (2006a), dois estudos sobre a técnica de ultrafiltração (processo contínuo em escala industrial para separação de sólidos de alto peso molecular, coloidais ou suspensos, através de uma membrana semi-permeável feita de um fino polímero) também foram realizados no ITAL. Um deste estudo consistiu não somente em dominar esta nova tecnologia de fabricação de requeijão cremoso como também em otimizar o processo de fabricação deste produto e compará-lo ao produto fabricado com massa obtida por coagulação ácida a quente (tradicional). O uso do retentado acidificado diretamente por adição de ácido láctico mostrou-se uma alternativa viável e de fácil aplicação prática na fabricação de requeijão cremoso ultrafiltrado (UF). O requeijão cremoso UF apresentou pH mais baixo, porcentagens de gordura, extrato seco total, nitrogênio solúvel, cinzas, Ca e Mg mais altas, um corpo mais firme, maior adesividade e menor elasticidade que o tradicional. Na avaliação sensorial os dois requeijões foram similares e a qualidade microbiológica destes produtos foi satisfatória mesmo após 60 dias de estocagem (VAN DENDER, 2000; SILVA, 2003). No outro estudo avaliou-se a viabilidade de acidificar diretamente com ácido láctico o retentado obtido de leite desnatado para obtenção do requeijão cremoso *light* ultrafiltrado. Este produto foi comparado ao requeijão tradicional *light* e ao requeijão obtido a partir de retentado de ultrafiltração fermentado e foram avaliados sensorialmente durante um período de 120 dias sob estocagem refrigerada. O uso de retentado de ultrafiltração acidificado até pH 5,7-5,8 por adição de ácido láctico mostrou-se viável também na fabricação de requeijão cremoso *light*. A porcentagem de redução no valor calórico total

nos requeijões *light* obtidos por ultrafiltração variou de 40-49%. Estes requeijões apresentaram maior porcentagem de nitrogênio solúvel, corpo mais firme, maior adesividade e características de derretimento inferiores ao *light* tradicionais. Ao longo da estocagem por 120 dias as amostras de requeijão *light* (tradicionais e ultrafiltradas) apresentaram grande similaridade no perfil eletroforético e boa qualidade microbiológica. Na avaliação sensorial as amostras de requeijão cremoso *light* obtidas de retentado de UF acidificado diretamente foram semelhantes à amostra tradicional e à amostra em que o retentado foi fermentado (SILVA, 2003).

Um estudo realizado por Gallina (2005), sugeriu o emprego do processo UHT na fabricação do requeijão cremoso nas versões tradicional (teor normal de gordura) e *light*, visto que estes produtos apresentaram boa aceitabilidade e um perfil sensorial similar ao requeijão cremoso e requeijão cremoso *light* obtidos pelo processo tradicional e usados como controle. O tratamento térmico aplicado durante o processo UHT provavelmente foi o responsável pelas diferenças observadas no perfil de textura e na microscopia eletrônica dos requeijões cremosos, conferindo-lhes consistência/fluidez adequadas para sua saída da embalagem. Além disso, o produto longa vida apresenta características físicas, químicas e sensoriais, cor e perfil eletroforético similares à versão normal. Finalmente, apresentaram elevada vida-de-prateleira, podendo ser estocados com segurança e mantendo sua qualidade por um período mínimo de 6 meses a 10°C e 4 meses a 25°C.

Um trabalho de pesquisa que propõe o desenvolvimento de formulações e de tecnologias de fabricação inéditas de requeijão cremoso *light* e sem gordura com adição de fibras solúveis vem sendo realizado no TECNOLAT/ITAL. Os resultados obtidos até o momento demonstraram a viabilidade de se fabricar requeijão cremoso *light* e requeijão cremoso sem adição de gordura, ambos com adição de fibra alimentar. Com a realização de testes preliminares, verificou-se a necessidade de ajustes na formulação de alguns requeijões a fim de adequar parâmetros de textura e obter um produto com características desejáveis. Estes ajustes envolvem alterações na composição centesimal e/ou a adição de ingredientes (VAN DENDER et al., 2005a; VAN DENDER et al., 2005b; VAN DENDER, 2006b).

Segundo Milagres et al. (2005), visto que o consumidor está preocupado em consumir alimentos saudáveis e à dificuldade de incluir fibras nos hábitos alimentares desenvolveu-se um requeijão *light* contendo fibras. O maior desafio do trabalho foi retirar a gordura total ou parcial sem alterar suas características; sendo assim, utilizou-se a fibra como substituto da gordura e, conseqüentemente, reduzir seu teor. O produto final apresentou textura firme (devido à adição de fibra), fina, lisa, homogênea, sabor levemente ácido e cor branco-creme. Conforme análise sensorial realizada, o produto apresentou boa aceitação. Adicionalmente, analisou-se o custo, que mesmo sendo um pouco mais elevado que o tradicional encontrou-se numa faixa acessível para comercialização.

## **2.5 Novas tecnologias**

O segmento de ingredientes para derivados lácteos tem crescido nos últimos anos, devido à possibilidade de adicionar aditivos aos produtos. Entre algumas empresas do setor existem aquelas que fornecem ácido sórbico e sorbato de potássio (conservantes), acidulantes e sais (reguladores de acidez), aromatizantes, fosfatos e polifosfatos (sais fundentes), bicarbonato de sódio (regulador de acidez do leite) e corantes. Para as especialidades lácteas podem ser adicionados outros ingredientes, como amidos modificados (rendimento e textura), hidrocolóides ou gomas (espessantes e/ou estabilizantes), gorduras de origem vegetal e ingredientes para melhorar o espalhamento, palatabilidade e cremosidade. Diferentes amidos (rendimento) e concentrados protéicos (versão *light*) podem ser empregados por fabricantes de requeijão e de especialidade láctea, através de um balanceamento na combinação de ingredientes (usar menos amido ou substituir a gordura vegetal por creme de leite) para melhorar o rendimento sem perder a característica do produto. Nas especialidades lácteas também podem ser adicionados bioprotetores, conservantes e *blends* à base de goma de amido (textura e consistência). E para o requeijão há uma tendência de adicionar aromas com a finalidade de agregar valor ao produto final, como sabor cheddar ou ervas finas; e também adicionar fibras, para pessoas que optam por uma alimentação mais saudável (MARCHIORI, 2005).



## 2.6 Considerações sobre o uso de gordura vegetal em requeijão

De acordo com Van Dender (2006a), até 2005, produtos com gordura vegetal não podiam ser chamados de requeijão e eram registrados como especialidade láctea, reques, compostos, alimento ou produto à base de requeijão. Tal fato ocorria porque, segundo a Portaria 359 de 04/09/1997, a denominação requeijão estava reservada ao produto no qual a base láctea não apresentasse gordura vegetal e/ou proteína de origem não láctea. Os técnicos do Selei/Dipoa (Serviço de Inspeção de Leite e Derivados/Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal) fizeram um amplo estudo de todos os produtos aprovados como requeijão, reques, especialidade láctea, composto alimentar, produto à base de... e verificaram que os ingredientes lácteos básicos destes produtos eram muito similares, bem como os ingredientes não-lácteos. O mesmo foi verificado no processo de fabricação, no qual parte-se da massa láctica, adicionando-se, a seguir, gordura vegetal, amido, sabor etc. Assim, segundo os referidos técnicos, a gordura vegetal não faz parte da base láctea e produtos como a especialidade láctea deveriam voltar a ser chamados de *requeijão com...* preenchendo-se o espaço em branco com o nome do condimento ou da substância alimentícia, assim, o nome do produto poderia ser (exemplo) “requeijão com gordura vegetal e amido”, devendo o nome vir completo e em destaque.

No final de 2005 o Dilei/Dipoa (Ofício Circular/DIPOA/DAS nº45 de 20/12/2005) suspendeu a aprovação de especialidades lácteas (ANEXO A) e deu um prazo para que as indústrias (ANEXO B) fizessem alterações de rotulagem e solicitação de novo número de registro de seus produtos. Assim, o produto que constava como “especialidade láctea” passaria a constar como requeijão e componentes extras, devendo seguir o regulamento técnico de requeijão (Van Dender, 2006a).

Conforme pesquisa realizada pelo Inmetro em 10 de setembro de 2006, os produtos analisados foram o requeijão e a especialidade láctea à base de requeijão no Programa de Análise de Produtos. Como conclusão, o Inmetro enviou os relatórios de ensaio para o Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor – DPDC e para o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal do MAPA, que informou estar reavaliando os Memoriais Descritivos de Fabricação do produto, visando à correção da nomenclatura do produto similar ao requeijão cremoso. Sendo assim, durante esta fase

de transição, as indústrias deverão afixar etiquetas na rotulagem, informando ao consumidor que os produtos contêm amido e gordura vegetal, de acordo com o processo de fabricação (INMETRO, 2007).

## **2.7 Evolução e tendência**

Se por um lado o consumo e a produção do requeijão, de maneira geral têm aumentado, o requeijão cremoso, vendido principalmente em potes de 200g e 250g, tem sofrido algumas alterações ocasionadas fundamentalmente pela baixa renda do brasileiro.

Uma das principais alterações verificou-se na sua embalagem, pois era comercializado tradicionalmente em potes de vidro de 250g – com grandes vantagens no que diz respeito à reciclagem, ao visual e a outros, tais como a sua utilização no dia-a-dia do lar como copos ou mesmo como *souvenir* para colecionadores – que foi parcialmente substituído por potes plásticos de 200g e também de 250g, alternativa mais barata que, segundo a ABRENEWS – Associação Brasileira de Embalagens, já representa 60% do total de requeijão cremoso produzido.

Segundo a ABRENEWS de 25 de julho de 2005 (ABRENEWS, 2006), na rede de supermercados Carrefour, por exemplo, as vendas de especialidade láctea foram 7% maiores no primeiro semestre de 2005 em comparação ao mesmo período de 2004, e tendo por base a produção de requeijão cremoso próxima a 30 mil toneladas em 2003, nada indica, ainda, que tenha havido uma queda causada pela entrada da especialidade láctea no mercado. Porém, com toda certeza, as próximas estatísticas registrarão as alterações causadas pela competição entre esses dois produtos.

No final de 2005, a Divisão de Inspeção de Leite e Derivados do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (Dilei/Dipoa) decide não mais permitir o registro de produtos como “Especialidade Láctea”, mas sim como “Requeijão e componentes extras”, o que, sem dúvida, aumentará a confusão entre os dois produtos.

## **2.8 Óleos e gorduras**

Os componentes majoritários dos óleos e gorduras são os triglicerídeos, e suas propriedades físicas dependem da estrutura e distribuição dos ácidos graxos presentes.

Os óleos e gorduras naturais podem ser os únicos constituintes de um produto ou podem fazer parte da mistura de diversos constituintes em um composto. Existem casos, entretanto, em que se torna necessário modificar as características desses materiais, para adequá-los a uma determinada aplicação. Portanto, o setor industrial de óleos e gorduras tem desenvolvido diversos processos para manipular a composição das misturas de triglicerídeos (HAMMOND; GLATZ, 1998).

Os glicerídeos são ésteres de ácidos graxos e glicerol, e nesta classe de compostos os triglicerídeos (as três hidroxilas do glicerol estão esterificadas a ácidos graxos) são os mais importantes por serem os componentes principais dos óleos e gorduras. Os triglicerídeos podem ser constituídos por espécies diferentes ou não de ácidos graxos, sendo as de mesma espécie (triglicerídeos simples) raramente encontrados na natureza. Estudos sobre a distribuição de ácidos graxos nos triglicerídeos concluem que essa distribuição pode ocorrer ao acaso, nas posições um e três, as quais são espacialmente equivalentes, mas não na posição dois, que é mais impedida estericamente. A orientação das substituições nas diferentes posições é determinada pelo comprimento da cadeia e pelas insaturações dos ácidos graxos. Na maioria dos casos, cadeias curtas e insaturações dirigem o ácido para a posição dois (DEUEL, 1951; HANAHAN, 1960; MARKLEY, 1960 e 1961; HILDITCH; WILLIAMS, 1964; JOHNSTON, 1971; DE MAN, 1976).

Segundo Deuel (1951), Hanahan (1960), Markley (1960, 1961), Hilditch e Williams (1964), Johnston (1971), De Man (1976), o glicerol é o constituinte comum a todos os óleos e gorduras. É um líquido incolor, de ponto de fusão 17,9°C e ponto de ebulição de 290°C, extremamente solúvel em água e etanol, insolúvel em éter etílico e clorofórmio, e que apresenta propriedades químicas próprias dos grupos hidroxílicos.

De acordo com Bockisch (1998), o glicerol é um álcool triplo simétrico e é importante como componente básico de todos os triglicerídeos. A maior parte do glicerol é utilizada em indústrias químicas e farmacêuticas, sendo o restante utilizado para alimentos, tabaco e fabricação de plásticos. Desde 1948, o glicerol, além de ser produzido exclusivamente de óleos e gorduras, também começou a ser sintetizado (a partir de propileno, por exemplo). Em tempos de guerra, também começou a ser produzido via fermentação de sacarose ou hidrogenação de sacarose e goma com

catalisadores de níquel. O glicerol é utilizado em grandes quantidades em indústrias alimentícias, sendo que os principais fornecedores são as indústrias de óleos e gorduras (YOUNG et al., 1986).

Um dos componentes importantes na avaliação da adulteração ou origem da matéria-prima dos laticínios é o glicerol. Como é um metabólito primário de organismos vivos, ocorre naturalmente, principalmente na forma esterificada em gorduras e óleos (BAUMAN et al., 1988), sendo um componente alimentício difundido, com uma composição isotópica particularmente indicativa da matriz da qual é extraída. De fato, já foi demonstrado que os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (composição isotópica do carbono) global e posicional deste metabólito da glicose, presente na maioria dos alimentos na forma livre ou esterificada, são ditados pela composição da glicose precursora e natural no passo metabólico principal para sua formação (WEBER; KEXEL; SCHMIDT, 1997).

## **2.9 Determinação isotópica**

Mais e mais frequentemente, os consumidores vêm se conscientizando acerca da importância da qualidade e da composição dos alimentos que consomem. Além disso, há situações em que é considerado impróprio por razões éticas e religiosas utilizar componentes naturais extraídos de certos animais para a fabricação de alimentos. O aumento na ocorrência de alimentos rotulados como “não animal” no mercado varejo agravou o problema analítico associado à identificação precisa da origem do material. Estas circunstâncias têm estimulado a busca por métodos analíticos permitindo uma definição exata da origem de ingredientes alimentícios. Para este fim, a medida da composição de isótopos estáveis, em especial  $^{13}\text{C}$  (carbono 13), se mostra altamente promissora (SCHMIDT, 1986; DONER, 1991; GUILLOU; REMAUD; MARTIN, 1991; MARTIN; MARTIN, 1995), por fornecer um rápido e confiável resultado graças à utilização do espectrômetro de massa de razão isotópica acoplado a um analisador elementar (EA-IRMS).

Segundo Oliveira et al. (2002), a importância que a metodologia isotópica vem assumindo pode ser avaliada pelo fato de ser oficial em diversos países, como nos Estados Unidos e na União Européia, para o controle de qualidade de produtos alimentícios, tais como: mel, suco de frutas, cerveja, vinho, entre outros. Alguns estudos

já foram realizados no Centro de Energia Nuclear na Agricultura – Universidade de São Paulo (CENA/USP – Piracicaba) com mel (de eucalipto) suspeito de adulteração pela adição de glucose de milho ou melaço de cana (ROSSI et al., 1999), além de outros produtos como café, vinho, cerveja e vodka, visando determinar a origem botânica destas bebidas (OLIVEIRA et al., 2002).

A utilização da técnica isotópica se mostrou eficaz na identificação da origem de componentes presentes em alimentos e bebidas. A análise é feita no produto bruto ou em substâncias isoladas, como por exemplo, o glicerol, permitindo uma maior precisão na determinação de sua provável origem. Quando se analisa o valor do  $\delta^{13}\text{C}$  durante uma análise, pode-se aumentar o potencial de autenticação quando associada à medida do  $\delta^{18}\text{O}$  da mesma amostra.

Rossi et al. (1999) mostrou muito bem a eficiência da técnica ao avaliar a adição de açúcares comerciais, derivados de cana-de-açúcar e milho, em amostras de mel. O açúcar derivado de plantas do ciclo fotossintético C4 (como o milho e a cana de açúcar) possui a composição isotópica do carbono em sua molécula distinta das plantas normalmente utilizadas pelas abelhas como fonte de néctar (flores silvestres, citros e eucalipto). Esta distinção molecular permite utilizar a razão entre os isótopos do carbono, a composição isotópica, em amostras de mel para se avaliar o nível de adulteração pela adição de açúcares comerciais, mais baratos e abundantes. Neste trabalho os autores analisaram amostras de plantas C3 ( $\delta^{13}\text{C} = -28,9 \pm 1,1\text{‰}$ ), subprodutos de plantas C4 (açúcares comerciais;  $\delta^{13}\text{C} = -11,1 \pm 0,7\text{‰}$ ) e 61 amostras de mel obtidas no mercado, sendo que cerca de 8% apresentaram sinais claros de adulteração.

Oliveira et al. (2002) mostraram o contraste importante em valores isotópicos do carbono pela utilização de subprodutos de plantas C4 (álcool, açúcar) em bebidas produzidas e comercializadas no Brasil. Esses autores utilizaram a determinação da composição isotópica do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) para identificar os possíveis níveis de adulteração em amostras de café, vinho, cerveja e vodka. Dentre as 20 marcas de café analisadas, apenas uma apresentou elevado percentual de plantas C4 em sua composição, indicando a adição de palha, provavelmente, de milho ou outra gramínea. Com relação aos vinhos brasileiros analisados, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  das 32 amostras

variaram entre -25,1 e -17,1‰, indicando presença de carbono de origem C4 nas amostras com valores mais positivos de  $\delta^{13}\text{C}$ , o que denota a prática comum entre alguns vinicultores da adição de açúcar ao vinho para mascarar sua acidez ou para atender uma determinada faixa de consumidores. Neste estudo as referências de produto de origem clara foram duas amostras de vinhos importados (chileno e italiano), que apresentaram  $\delta^{13}\text{C}$  característico de uva, que é uma planta de ciclo fotossintético C3 (-27,1 e -26,3‰). Já os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  para as vodkas importadas variaram entre -26,4 e -23,9‰, e as sete marcas brasileiras entre -12,8 e -11,8‰, mostrando claramente que o álcool presente nestas amostras tem origem em plantas C4. A adição de plantas C4 também fica evidente na cerveja, onde as marcas de cervejas importadas analisadas apresentaram valores de  $\delta^{13}\text{C}$  mais negativos (-27,3 a -20,7‰) do que os produtos de origem nacional (-25,9 a -18,4‰).

O valor isotópico para o glicerol de vegetal reflete a via de fixação de carbono C3 ou C4, enquanto que para glicerol de gorduras animais é influenciado pela composição do material consumido na dieta. Adicionalmente, a origem do glicerol de vinhos, de fermentação de açúcar e de gorduras tem também sido determinada através de estudos do  $^2\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em combinação para potencializar a determinação da origem do glicerol (ZHANG et al., 1998). Masud et al. (1999), também afirmaram que o etanol derivado de leite é um produto que não pode ser comparado diretamente com outros etanóis fermentados de plantas C3 (uva, açúcar, beterraba, trigo, batata) ou C4 (cana-de-açúcar, milho), pois os componentes isotópicos da planta refletem nos produtos derivados dos animais pela alimentação dos mesmos.

Numa abordagem distinta Rossmann et al. (2000) analisaram de forma extensiva amostras de glicerol de diferentes origens, concluindo que a eficácia do método se acentua com a utilização conjunta dos valores isotópicos do carbono e oxigênio ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$ , respectivamente). Levando em conta estas indicações, foi interessante determinar os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  num número mais amplo de amostras de glicerol de origem diferente para se ter um avanço na verificação dos resultados prévios. Já em outros estudos realizados com leite e manteiga demonstraram o potencial do método isotópico, em particular a medida do conteúdo do  $^{18}\text{O}$  da água, para a determinação de origem em laticínios. Para determinar a origem do queijo, a medida do conteúdo do  $^{18}\text{O}$  da água

não pode ser considerada desse modo, pois a água presente em queijo poderia ser derivada, em parte, da água utilizada durante o processo de fabricação de queijo e influenciaria no resultado da análise (FRONZA, 2001).

De acordo com Fronza et al. (2001), os laticínios são produtos altamente susceptíveis à adulteração, sendo que estudos recentes revelam a presença constante de compostos não permitidos em queijos. Dentre as técnicas aplicadas para detecção de adulteração em alimentos, a utilização de isótopos estáveis vem ganhando campo nos últimos anos.

Um aspecto importante na determinação da origem dos produtos advém do fato que a base de variação isotópica em plantas resulta do fracionamento isotópico durante a fotossíntese. As plantas terrestres podem ser divididas em três grupos fotossintéticos principais, cada um com seu padrão de fracionamento isotópico específico, C3, C4 e MAC (metabolismo ácido das crassuláceas), sendo que os metabolismos C3 e C4 são muito mais abundantes. A composição isotópica destes diferentes tipos fotossintéticos são em geral resultado de: (1) propriedades bioquímicas da fixação primária de CO<sub>2</sub> por ação enzimática; (2) limitações da difusão do CO<sub>2</sub> dentro das folhas (BOUTTON, 1991) e (3) relação entre a pressão interna de CO<sub>2</sub> na câmara estomacal e a pressão externa da atmosfera (FARQUHAR; EHLERINGER; HUBUCK, 1989). As plantas com via fotossintética C3 (soja, uva, arroz, maçã, cevada, entre outros), reduzem o CO<sub>2</sub> para fosfoglicerato (um composto de três carbonos) através da enzima RuBP-carboxilase. Esta enzima discrimina o <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>, resultando em valores de δ<sup>13</sup>C relativamente baixos, entre -32 e -23‰, com média de -27‰ (BOUTTON, 1991). Por outro lado, as plantas C4 (cana-de-açúcar, milho, sorgo, entre outros) reduzem o CO<sub>2</sub> a ácido aspártico ou ácido málico, ambos compostos com quatro carbonos, através da enzima PEP-carboxilase. Esta enzima não discrimina o <sup>13</sup>C como a RuBP-carboxilase, e desta forma as plantas C4 têm valores de δ<sup>13</sup>C relativamente mais altos. Tais valores variam entre -15 e -9‰, com média de -13‰ (BOUTTON, 1991). Assim, as espécies C3 e C4 têm valores distintos de δ<sup>13</sup>C, que não se sobrepõem, sendo possível a utilização desses valores na identificação da fonte de carbono.

O conteúdo do <sup>13</sup>C total permite distinguir o glicerol de plantas C4 e de plantas C3, a primeira com valor do δ<sup>13</sup>C = -14,4‰ e a segunda com valor do δ<sup>13</sup>C = -30,7‰. Os

valores isotópicos ( $\delta^{13}\text{C}$ ) de gliceróis de origem animal depende da dieta do animal (FRONZA et al., 2001).

A determinação da razão isotópica permite uma comparação dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  do produto. Assim, quando existem somente duas fontes isotopicamente distintas, o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  do produto refletirá a quantidade das duas fontes presentes no produto, que pode ser quantificado pela equação (1) de mistura ou diluição isotópica:

$$\%C_3 = \frac{\delta^{13}\text{C}_{amostra} - \delta^{13}\text{C}_4}{\delta^{13}\text{C}_3 - \delta^{13}\text{C}_4} \quad (1)$$

na qual  $\delta^{13}\text{C}_3$  e  $\delta^{13}\text{C}_4$  são a composição isotópica de plantas C3 e C4, respectivamente.



### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Levantamento dos produtos lácteos existentes no mercado**

Inicialmente, foi feito um levantamento de todas as marcas encontradas de requeijões e similares em supermercados na cidade de Piracicaba, São Paulo, sendo realizada aproximadamente seis meses antes do início dos experimentos.

#### **3.2 Material**

A aquisição das vinte e oito marcas de requeijões e similares encontradas foi realizada em dez supermercados na cidade de Piracicaba, no mesmo período. As amostras analisadas foram: requeijão cremoso, especialidade láctea com requeijão cremoso, alimento à base de requeijão e creme vegetal, requeijão cremoso com amido e não identificado (tabela 4).

Tabela 4 – Relação de todas as marcas de requeijão cremoso e similares adquiridas

<b>Marcas</b>	<b>Tipo</b>
I	Requeijão cremoso
II	Requeijão cremoso
III	Requeijão cremoso
IV	Requeijão cremoso
V	Requeijão cremoso
VI	Requeijão cremoso
VII	Requeijão cremoso
VIII	Requeijão cremoso
IX	Requeijão cremoso
X	Requeijão cremoso
XI	Requeijão cremoso
XII	Requeijão cremoso
XIII	Requeijão cremoso
XIV	Requeijão cremoso
XV	Requeijão cremoso
XVI	Requeijão cremoso
XVII	Requeijão cremoso
XVIII	Requeijão cremoso
XIX	Requeijão cremoso
XX	Requeijão cremoso com amido
XXI	Requeijão cremoso com amido
XXII	Especialidade láctea com requeijão cremoso
XXIII	Especialidade láctea com requeijão cremoso
XXIV	Especialidade láctea com requeijão cremoso
XXV	Especialidade láctea com requeijão cremoso
XXVI	Especialidade láctea com requeijão cremoso
XXVII	Alimento à base de requeijão e creme vegetal
XXVIII	Não identificado

### **3.3 Padrões para os experimentos**

Serviram como padrões para o experimento o leite de vaca e o óleo de soja, cujas frações lipídicas identificam a origem animal ou vegetal do glicerol, respectivamente.

Inicialmente, foram analisadas algumas marcas de leite e de óleo com o objetivo de obter um valor médio de origem animal e vegetal dos resultados, pois os valores desses padrões que foram adotados para servir como referência poderiam variar entre as marcas. Assim, houve a necessidade de analisar mais de uma marca para se obter uma média dos resultados encontrados.

Esses valores médios dos padrões (animal e vegetal) foram utilizados para cálculos posteriores, os quais puderam determinar o percentual de material de origem C3 (no caso, óleo de soja) na amostra analisada. O resultado desse cálculo identificou a origem do material submetido à análise isotópica.

É importante destacar que os resultados dos padrões foram comparados com valores de literatura para confirmar se estavam de acordo.

### **3.4 Calibração do equipamento e metodologia**

Para avaliar a precisão analítica da determinação no espectrômetro de massas, realizou-se um teste inicial. Para isso, foram avaliados dois tipos de produtos, um requeijão cremoso e uma especialidade láctea com requeijão cremoso, sendo ambos de mesmo fabricante. De cada um, foram produzidas dez sub-amostras (consideradas repetições). Os resultados das amostras foram comparados para comprovar a repetibilidade e a precisão do equipamento.

Através da garantia da precisão do equipamento utilizado no experimento, pôde-se determinar o delineamento experimental.

### **3.5 Delineamento experimental**

Todas as marcas encontradas de requeijões e similares nos supermercados foram incluídas no delineamento experimental, sendo que os produtos foram adquiridos em postos de venda comercial durante o mesmo período. As amostras foram analisadas em triplicata, ou seja, de cada marca foram adquiridas três unidades do produto e de cada unidade, uma amostra foi analisada. Esse tamanho amostral foi escolhido pelo

cálculo do tamanho ideal de amostra, utilizando o teste inicial de estatística (*software* GraphPad Stat Mate®).

As análises foram realizadas no Laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (ESALQ/USP – Piracicaba, São Paulo) e no Laboratório de Ecologia Isotópica (CENA/USP – Piracicaba, São Paulo).

### **3.6 Extração da fração lipídica dos produtos lácteos**

A extração foi realizada conforme o método de separação de lipídeos rápido, o qual consiste em separar a fração lipídica através da centrifugação. Este método é preciso, simples, rápido, seguro, econômico e principalmente adequado para grande número de amostras (FENG; LOCK; GARNSWORTHY, 2004).

Segundo o procedimento, a amostra refrigerada foi diluída em água destilada para ser centrifugada. Após a primeira centrifugação, recolheu-se o sobrenadante (camada superior de gordura), que foi posteriormente centrifugado à temperatura ambiente (aproximadamente 20°C). No final do processo a gordura foi separada em 3 camadas: a superior de lipídeos; a intermediária de proteína, gordura e outros sólidos insolúveis em água; e a inferior de água. Foi utilizada a camada superior de lipídeos.

### **3.7 Hidrólise de glicerídeos**

A hidrólise de glicerídeos foi realizada de acordo com a seguinte metodologia:

Os lipídeos separados conforme o item 3.6 foram dissolvidos em 10 volumes de metanol e tratados com 10% do peso do metóxido de sódio. No final da reação, o volume da mistura foi reduzido sob vácuo e o resíduo foi separado em hexano e água. A fase aquosa, contendo o glicerol, foi neutralizada a pH 7,0 pela adição de solução 2 N HCl e seca (FRONZA et al., 1998). O glicerol foi recuperado do resíduo pela extração com etanol e purificado por destilação a vácuo bulbo-a-bulbo.

### **3.8 Sistema de resfriamento efetivo em destilação bulbo-a-bulbo**

A recuperação do glicerol foi realizada por destilação a vácuo bulbo-a-bulbo (LAB NOTES, 2000).

A destilação bulbo-a-bulbo é uma técnica de laboratório utilizada para a purificação em pequena escala de substâncias líquidas. Nesta microescala, uma quantidade pequena do material é redistilado usando vários bulbos de vidro conectados em linha, sendo que os bulbos coletores são conectados por um dispositivo rotativo.

Tradicionalmente, o resfriamento de bulbos coletores tem sido realizado com gelo seco em acetona (-78°C), especialmente com substâncias de baixo ponto de ebulição ou destilação sob vácuo.

### 3.9 Determinação isotópica

As análises foram realizadas no Laboratório de Ecologia Isotópica (CENA/USP – Piracicaba, São Paulo). A determinação da composição isotópica das amostras foi feita através de um analisador elementar (Carlo Erba EA 1110 CHNS) acoplado a um espectrômetro de massas de razão isotópica (IRMS, Finnigan MAT Delta Plus). Após a oxidação da matéria orgânica presente nas amostras no analisador elementar, ocorreu a separação cromatográfica do CO<sub>2</sub> de outros gases gerados na combustão, e este foi então carregado ao espectrômetro para as determinações isotópica e elementar (%) do carbono.

A composição isotópica do carbono é expressa pela equação (2):

$$\delta^{13}C = \left( \frac{R_{amostra} - R_{padrão}}{R_{padrão}} \right) * 1000 \quad (2)$$

Na qual a expressão  $R_{amostra}$  é a razão isotópica  $^{13}C/^{12}C$  da amostra e  $R_{padrão}$  é a razão isotópica  $^{13}C/^{12}C$  do padrão. O padrão utilizado internacionalmente é a rocha calcárea *Pee Dee Belamite* do *Grand Canyon* dos Estados Unidos.

### 3.10 Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente conforme recomendação do Departamento de Estatística da Universidade Federal de São Carlos.

A análise estatística dos dados foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. Como as variáveis apresentaram distribuição normal,

foi utilizada a ANOVA seguida do teste de Tukey. Em todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5% ( $p < 0,05$ ) e o *software* utilizado foi o GraphPad Prism 3.02<sup>®</sup>.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os resultados obtidos no experimento foram medidas do glicerol, o qual foi separado e isolado da fração lipídica da amostra (padrões, requeijões e similares). O método de separação utilizado foi o de separação rápida (centrifugação), que possui muitas vantagens sobre o convencional de Hara e Radin (1978): redução de 60% do tempo na separação lipídica, mais de 90% de redução de custos químicos, mais de 70% de redução em trabalho, além de beneficiar o ambiente por não utilizar solvente e ainda, é adequado para processar grande número de amostras (FENG; LOCK; GARNSWORTHY, 2004).

### 4.1 Padrões: óleos de soja e milho, leite e creme de leite

Na tabela 4 encontram-se as médias dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) dos padrões analisados no presente estudo. Estes padrões permitiram comparar os valores das amostras analisadas, pois o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do produto analisado reflete a quantidade da fonte (glicerol) presente, podendo ser então, mais positivo ou mais negativo.

Cada um dos padrões (vegetal e animal) apresentou valor de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) bem característico. A gordura de leite (padrão animal) apresentou valor isotópico entre os dois óleos vegetais. Os resultados do  $\delta^{13}\text{C}$  dos padrões (tabela 5) são do glicerol das amostras e não da gordura e do óleo brutos, pois o glicerol foi isolado da fração lipídica e analisado.

Tabela 5 – Valores da média  $\pm$  epm de  $\delta^{13}\text{C}$  dos gliceróis de gordura de leite, óleo de soja e de milho (padrões – animal, vegetal C3 e vegetal C4, respectivamente)

<b>Padrões</b>	<b><math>\delta^{13}\text{C}</math> (‰)</b>
Animal	-17,59 $\pm$ 0,22
Vegetal (C3)	-31,67 $\pm$ 0,33
Vegetal (C4)	-15,84 $\pm$ 0,31

Alguns resultados do percentual de C3 calculados nas amostras analisadas foram negativos porque o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) adotado como padrão animal (gordura de leite) foi mais negativo que o valor  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) da amostra analisada.

Através da tabela 5, pode-se perceber a diferença do valor médio  $\delta^{13}\text{C}$  dos padrões vegetais C3 e C4 analisados, sendo o primeiro mais negativo que o segundo. Nota-se também que o padrão animal é mais negativo do que o padrão vegetal C4. Esses valores médios encontrados foram adotados como padrões para o experimento. O valor do glicerol encontrado para o padrão animal é próximo da planta C4, pois parte importante da alimentação do gado é composta por plantas desse mesmo ciclo fotossintético.

Os valores da média dos padrões (gordura de leite e óleo de soja) utilizados para o cálculo do percentual de C3 foram:  $\delta^{13}\text{C}_{\text{leite}} = -17,59 \text{ ‰}$  e  $\delta^{13}\text{C}_{\text{soja}} = -31,67 \text{ ‰}$ . A equação (3) adotada para se encontrar esse percentual foi a seguinte:

$$\%C_3 = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{amostra}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{leite}}}{\delta^{13}\text{C}_{\text{soja}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{leite}}} \quad (3)$$

O resultado igual a zero ou qualquer número negativo indica que não há adição de óleo vegetal presente na amostra analisada. Quanto mais próximo de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{soja}}$  é o valor de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{amostra}}$ , maior será o teor de C3 (%C3), ou seja, maior será a quantidade de óleo de soja possivelmente adicionado na formulação do produto ou a alimentação do gado, se for baseada em planta C3, a qual apresenta valor isotópico mais negativo, poderá refletir parcialmente no resultado.

A figura 2 apresenta graficamente a diferença nos valores do  $\delta^{13}\text{C}$  do vegetal C3 (glicerol de óleo de soja) do vegetal C4 (glicerol de óleo de milho) e do animal (glicerol de gordura de leite).



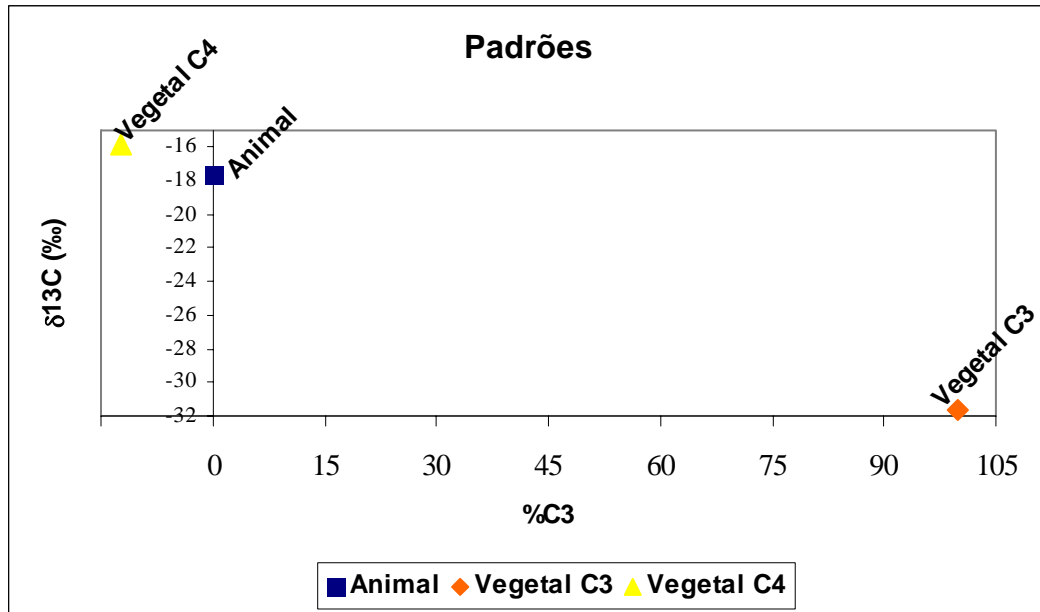


Figura 2 – Valores dos padrões analisados – animal, vegetal C3 e vegetal C4 (médias do  $\delta^{13}\text{C}$ )

Na tabela 6 a seguir, os valores de glicerol da literatura (FRONZA et al., 1998; 2001) foram comparados aos obtidos experimentalmente. Esses valores adotados como referência de literatura foram obtidos de dois estudos. Fronza et al. (1998) determinaram a composição isotópica de 63 amostras de glicerol, de diferentes origens (gordura animal, óleo vegetal, fermentação de açúcar e glicerol comercial). Os resultados ( $\delta^{13}\text{C}$ ) confirmaram a possibilidade de distinção das amostras de glicerol: entre -32,7 e -20,2‰ para gordura de origem animal (gordura de animais, manteiga, óleo de peixe, banha); entre -31,6 e -27,6‰ (plantas C3) e entre -15,6 e -14,6‰ (plantas C4) para origem vegetal (oliva, soja, algodão, milho, coco, trigo, entre outros óleos); entre -32,62 e -26,49‰ (plantas C4) e -16,5‰ (planta C3) para fermentação de açúcar (milho, beterraba, vinhos); entre -18,8 e -34,3‰ para gliceróis comerciais (gordura animal, óleo de planta, petroquímico, monoglicerídeo, base de goma, entre outras fontes).

Já no segundo estudo, foram determinados os valores isotópicos de  $^{13}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}$  de 36 amostras de glicerol de gorduras (animal, plantas C3 e C4, óleo de oliva e queijos italianos). Neste estudo, pôde-se perceber que o  $\delta^{13}\text{C}$  permitiu distinguir a origem do glicerol analisado, e, juntamente, com a medida do  $\delta^{18}\text{O}$  potencializou o critério de

autenticação diagnosticado nesta análise. Os valores  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  das amostras de glicerol foram, respectivamente: entre -23,5 e -15,4‰ e entre 15,1 e 23,5‰ para origem animal (gordura de gado, manteiga, banha e óleo de peixe); entre -15,3 e -13,9‰ e entre 25,8 e 27,6‰ para origem vegetal (C3 – milho); entre -33,0 e -29,5‰ e entre 21,1 e 25,3‰ para origem vegetal (C4 – soja, trigo, girassol, amêndoa, entre outros); entre -27,4 e -18,8‰ e 20,1 e 16,1 ‰ para origem vegetal (C4 – base de goma comercial e monoglicerídeo comercial); entre -31,3 e -28,6‰ e entre -20,1 e -23,1‰ para óleo de oliva; -30,7 e -23,2‰ e entre 11,4 e 17,8‰ para queijos italianos (FRONZA et al., 2001).

Tabela 6 – Valores da média de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) de glicerol dos padrões vegetais obtidos no experimento em comparação com a literatura

<b>Padrões vegetais – C3 e C4</b>	<b><math>\delta^{13}\text{C}</math> (‰) – glicerol</b>
Óleo de soja – experimental	-31,67
Óleo de soja – literatura (1)	-32,10
Óleo de milho – experimental	-15,84
Óleo de miho – literatura (1)	-14,68

(1) Fonte: Fronza et al., 1998, 2001.

A média dos valores dos padrões C3 e C4 analisados estão de acordo com os valores encontrados na literatura, confirmando adequação da metodologia empregada. A pequena diferença no valor isotópico entre o obtido na literatura e o encontrado neste estudo pode estar relacionada a diferenças regionais, onde microclima específico ou qualidade do grão produzido determinam estas variações.

Por falta de mais dados de literatura, não se pode comparar os resultados de  $\delta^{13}\text{C}$  de glicerol de leite. Portanto, a tabela 7 apresenta os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  do glicerol de leite analisado e do  $\delta^{13}\text{C}$  da fração lipídica de leite encontrado na literatura (MASUD et al., 1999). O leite analisado por ser de fonte conhecida, com controle de produção, alimentação, etc., pode então ser chamado de padrão para o experimento.

Tabela 7 – Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) de glicerol do padrão animal obtido no experimento em comparação com a gordura do leite

<b>Dados experimentais*</b>	<b><math>\delta^{13}\text{C}</math> (‰)</b>
Leite	-17,81
Creme de leite	-17,38
<b>Média</b>	<b>-17,59</b>
<b>Padrões de literatura**</b>	<b><math>\delta^{13}\text{C}</math> (‰)</b>
Leite (média de valores influenciados pela alimentação)	-21,70
Leite (média de valores influenciados pela ingestão de água)***	-16,92
<b>Média</b>	<b>-19,31</b>

\*Análise do glicerol

\*\* Análise da fração lipídica (MASUD et al., 1999)

\*\*\* Valores isotópicos do  $^{13}\text{C}$

Analisando as médias dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do glicerol com os da gordura do leite encontrados na literatura percebe-se a pequena diferença, permitindo que, apesar das variações, os dados podem ser comparados.

#### **4.2 Calibração: especialidade láctea com requeijão cremoso e requeijão cremoso**

As análises para calibração foram realizadas com uma mesma marca de requeijão e de especialidade láctea, sendo que de cada um desses produtos foi analisado 10 vezes, obtendo-se a média de -18,99‰ e -22,49‰, respectivamente (tabela 8). Os 10 resultados obtidos de cada marca comprovaram a precisão e a calibração do espectrômetro de massa.

Tabela 8 – Valores da média  $\pm$  epm de  $\delta^{13}\text{C}$  e média do percentual de C3

Testes	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	%C3
Controle (padrão)	-17,59 $\pm$ 0,21	0,00
Requeijão cremoso	-18,99 $\pm$ 0,02*	9,92
Especialidade láctea	-22,49 $\pm$ 0,02*	34,79

p<0,05, \* comparado ao controle

Para calcular a porcentagem de C3 na amostra, utilizou-se a seguinte equação (4):

$$\%C_3 = \frac{\delta^{13}\text{C}_{amostra} - \delta^{13}\text{C}_{leite}}{\delta^{13}\text{C}_{\text{óleo de soja}} - \delta^{13}\text{C}_{leite}} \quad (4)$$

A média das amostras analisadas utilizadas para os padrões foram:  $\delta^{13}\text{C}_{\text{óleo de soja}} = -31,67$  ‰ e  $\delta^{13}\text{C}_{leite} = -17,59$  ‰.

Comparando os resultados obtidos para a especialidade láctea e o requeijão cremoso com os padrões, nota-se que a especialidade láctea apresentou um valor de  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) mais negativo do que o requeijão cremoso, indicando a presença de óleo de origem vegetal (soja) na amostra. O requeijão cremoso, por sua vez, apresentou um valor do  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) próximo do glicerol animal (leite e creme de leite), conforme preconiza a legislação que determina que o requeijão seja produzido a partir de produto de origem animal somente, e não vegetal. O valor do  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) do glicerol animal foi considerado como padrão do experimento e comparado com todas as amostras analisadas.

Antolovich, Li e Robards (2001), utilizaram a metodologia isotópica para detectar possível adulteração em sucos de laranja australianos pela adição de açúcar de cana, comprovando a eficiência da técnica. O estudo detectou que podem ocorrer oscilações nos resultados devido a técnica de medição e a importância da calibração cuidadosa baseado num grande número de amostras para maior fidelidade nos resultados.

A figura 3 ilustra a grande diferença de padrão isotópico entre as amostras de requeijão cremoso e especialidade láctea.

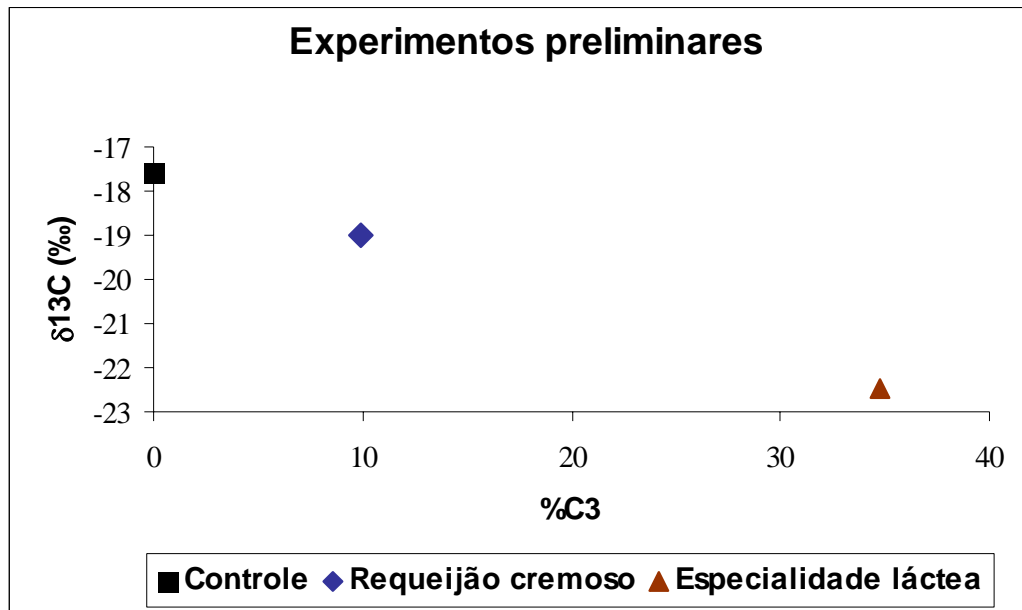


Figura 3 – Valores médios do  $\delta^{13}\text{C}$  de requeijão cremoso e especialidade láctea com requeijão cremoso, comparados com o controle

O valor isotópico do requeijão cremoso foi de  $-19\text{‰}$ , enquanto que o da especialidade láctea com requeijão cremoso foi mais negativo, aproximadamente  $-22\text{‰}$ . O percentual de C3 da especialidade láctea foi, aproximadamente, 3,5 vezes maior que o do requeijão cremoso.

#### 4.3 Experimento (requeijão cremoso e similares)

Três unidades de produto foram adquiridas de cada marca comercial e de cada unidade, uma amostra foi analisada. Os resultados das amostras analisadas encontram-se na tabela 9 a seguir, sendo separados por tipo de denominação de produto: requeijão cremoso, requeijão cremoso com amido, especialidade láctea com requeijão cremoso, alimento à base de requeijão e creme vegetal, e não identificado.

Das 28 marcas de requeijão e similares encontrados nos supermercados, a maioria era denominada como requeijão cremoso (19 marcas) e o restante era identificado com informação adicional ou não. A variação de resultado,  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), dentro de uma mesma marca comercial reflete a amostragem. Cada resultado se refere a um pote de produto. Os resultados dos requeijões cremosos se apresentaram muito

próximos um do outro, dentro da faixa de valores para  $\delta^{13}\text{C}$  de -16,50 a -19,79‰, conforme pode ser visualizado na tabela 9, exceto por duas marcas (amostras XV e XVI) que apresentaram valores isotópicos superiores aos demais. Estas marcas são as potencialmente suspeitas de não se enquadrarem, pela legislação, a esta categoria de produto.

Tabela 9 – Valores da média  $\pm$  epm de  $\delta^{13}\text{C}$  e média do percentual de C3 de todas as marcas de requeijão cremoso analisadas

<b>Marcas</b>	<b><math>\delta^{13}\text{C}</math> (‰)</b>	<b>%C3</b>
Controle	-17,59 $\pm$ 0,21	0,00
I	-16,97 $\pm$ 0,09	-4,43
II	-18,35 $\pm$ 0,13	5,37
III	-16,93 $\pm$ 0,17	-4,66
IV	-17,85 $\pm$ 0,03	1,87
V	-17,65 $\pm$ 0,11	0,43
VI	-18,29 $\pm$ 0,16	4,99
VII	-18,75 $\pm$ 0,22	8,26
VIII	-16,74 $\pm$ 0,40	-6,06
IX	-18,85 $\pm$ 0,03	8,97
X	-17,62 $\pm$ 0,16	0,24
XI	-17,29 $\pm$ 0,46	-2,16
XII	-18,14 $\pm$ 0,08	3,91
XIII	-16,50 $\pm$ 0,27	-7,76
XIV	-19,79 $\pm$ 0,40	15,62
XV	-24,62 $\pm$ 2,09*	49,91*
XVI	-22,75 $\pm$ 1,43*	36,62*
XVII	-17,36 $\pm$ 0,08	-1,66
XVIII	-17,09 $\pm$ 0,23	-3,55
XIX	-17,40 $\pm$ 0,25	-1,35

p<0,05, \* comparado ao controle

A figura 4 reflete de maneira bastante clara o comentário anterior. As amostras que apresentaram valores isotópicos mais negativos foram as marcas XV e XVI.

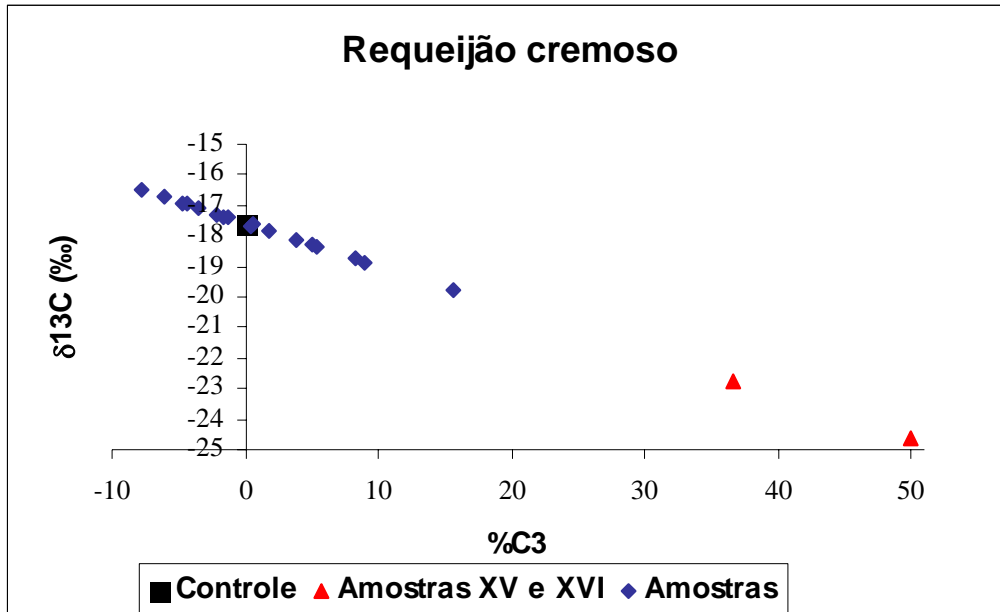


Figura 4 – Valores da média de  $\delta^{13}\text{C}$  dos requeijões cremosos, comparados com o controle

Com relação ao cálculo do percentual de C3 de cada uma das amostras analisadas, nota-se que aquelas com valores mais negativos apresentaram percentual bem mais elevado quando comparado com a grande maioria analisada. A amostra XV foi a que apresentou a maior média de %C3 (49,91%) de toda a categoria de requeijão cremoso, sendo que este resultado foi confirmado em todas as suas repetições, indicando uma possível fraude. A amostra XVI também teve suas repetições com valores fora da faixa característica, sendo a média do %C3 um pouco menor que a amostra XV, representada por 36,62%.

Os produtos similares (requeijão cremoso com amido, especialidade láctea com requeijão cremoso, alimento à base de requeijão e creme vegetal, e não identificado) ao requeijão cremoso foram agrupados e identificados, conforme tabela 10.

Tabela 10 – Valores da média  $\pm$  epm de  $\delta^{13}\text{C}$  das marcas dos similares do requeijão cremoso analisados

<b>Marcas</b>	<b>Tipo</b>	<b><math>\delta^{13}\text{C}</math> (‰)</b>	<b>%C3</b>
Controle	–	-17,59 $\pm$ 0,21	0,00
XX	Requeijão cremoso com amido	-18,93 $\pm$ 0,04	9,52
XXI	Requeijão cremoso com amido	-18,86 $\pm$ 0,10	9,02
XXII	Especialidade láctea com requeijão cremoso	-23,09 $\pm$ 0,24*	39,04*
XXIII	Especialidade láctea com requeijão cremoso	-17,65 $\pm$ 0,11	0,43
XXIV	Especialidade láctea com requeijão cremoso	-17,06 $\pm$ 0,31	-3,76
XXV	Especialidade láctea com requeijão cremoso	-17,74 $\pm$ 0,52	1,09
XXVI	Especialidade láctea com requeijão cremoso	-18,51 $\pm$ 0,98	6,56
XXVII	Alimento à base de requeijão e creme vegetal	-25,05 $\pm$ 0,33*	53,01*
XXVIII	Não identificada	-21,88 $\pm$ 0,81*	30,49*

p<0,05, \* comparado ao controle

Na categoria requeijão cremoso com amido apenas duas marcas foram encontradas e analisadas, sendo que ambas tiveram seus valores isotópicos bem próximos quando comparadas entre si e com o controle. A %C3 calculada também foi similar nas amostras analisadas (entre 9 e 10%).

A segunda categoria em número de marcas mais encontradas nos supermercados foi a de especialidade láctea com requeijão cremoso (cinco marcas). Nesse grupo, apenas uma marca (XXII) apresentou valor distinto das demais, sendo seu  $\delta^{13}\text{C}$  bem mais negativo. Essa marca foi a que teve os resultados isotópicos mais distantes dos valores encontrados para o requeijão cremoso e o controle, além da alta %C3, indicando provável adição de óleo de origem vegetal.

Apenas uma marca foi encontrada com a denominação de “Alimento à Base de Requeijão e Creme Vegetal”. Os valores obtidos foram bem próximos nas três repetições realizadas, observando que foram todos bem negativos quando comparados com o requeijão cremoso. O valor alto do %C3 dessa categoria de produto foi 53,01%, por apresentar o  $\delta^{13}\text{C}$  mais negativo que o controle.



Uma única marca foi encontrada sem especificar a denominação do produto. Não foi possível enquadrá-la em nenhuma das categorias anteriores, e por isso apenas denominou-se como “não identificada”. Os valores isotópicos tiveram uma variação entre as repetições, mas todos apresentaram valores mais negativos do que os do tradicional requeijão cremoso (controle). Presume-se que este produto seja composto pelos dois tipos de gorduras, de origem animal e vegetal, pois seu valor isotópico foi mais negativo quando comparado ao controle. Além disso, como o produto não apresentou identificação no rótulo, já se suspeitava a utilização de fontes distintas de gordura.

Na figura 5 pode-se visualizar que as amostras de requeijão cremoso com amido tiveram seu  $\delta^{13}\text{C}$  bem próximos (aproximadamente  $-19\text{‰}$ ). Por se tratar de um produto com adição de amido, seu valor isotópico está similar com o do tradicional requeijão cremoso, pois algumas amostras da categoria requeijão cremoso também apresentaram valores como esses citados.

Nas amostras de especialidade láctea com requeijão cremoso, uma amostra (XXII) se destacou (diferença significativa) das demais marcas analisadas e do controle também, apresentando valor isotópico mais negativo. A amostra denominada como “Alimento à Base de Requeijão e Creme Vegetal” e a não identificada também apresentaram o valor da média significativamente diferente (figura 5).

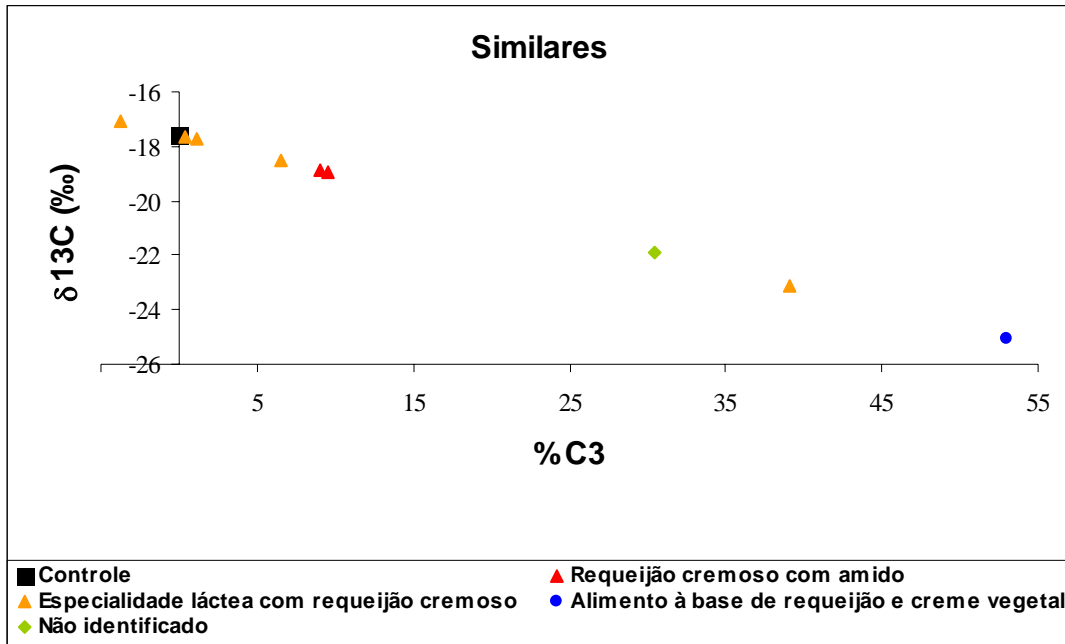


Figura 5 – Valores da média dos similares do requeijão cremoso, comparados com o controle

As três amostras (uma de especialidade láctea com requeijão cremoso, uma de alimento à base de requeijão e creme vegetal e uma não identificada) visualizadas na figura 5 entre os valores 30 e 55% de C3 são aqueles com diferença significativas, identificadas como amostras XXII, XXVII e XXVIII.

A figura 6 apresenta todos os resultados dos requeijões e dos seus similares para  $\delta^{13}\text{C}$  experimentais obtidos que podem ser comparados com os padrões definidos nesta pesquisa.

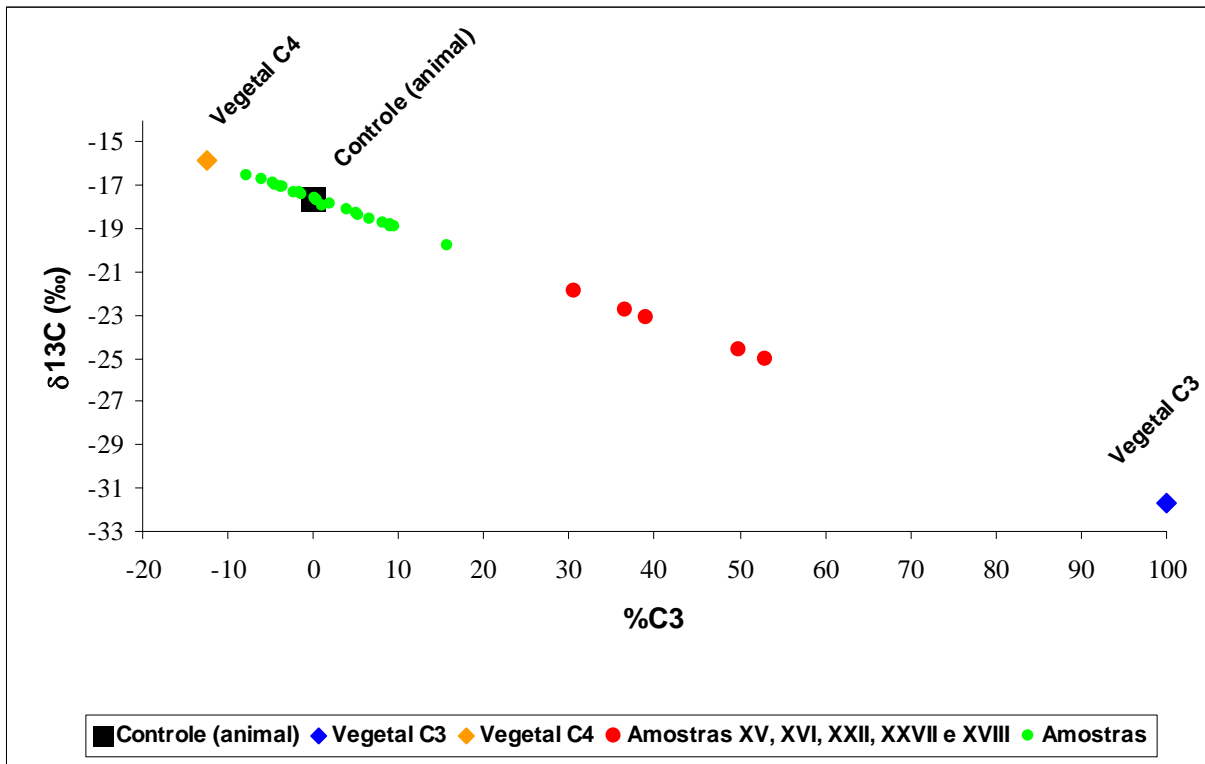
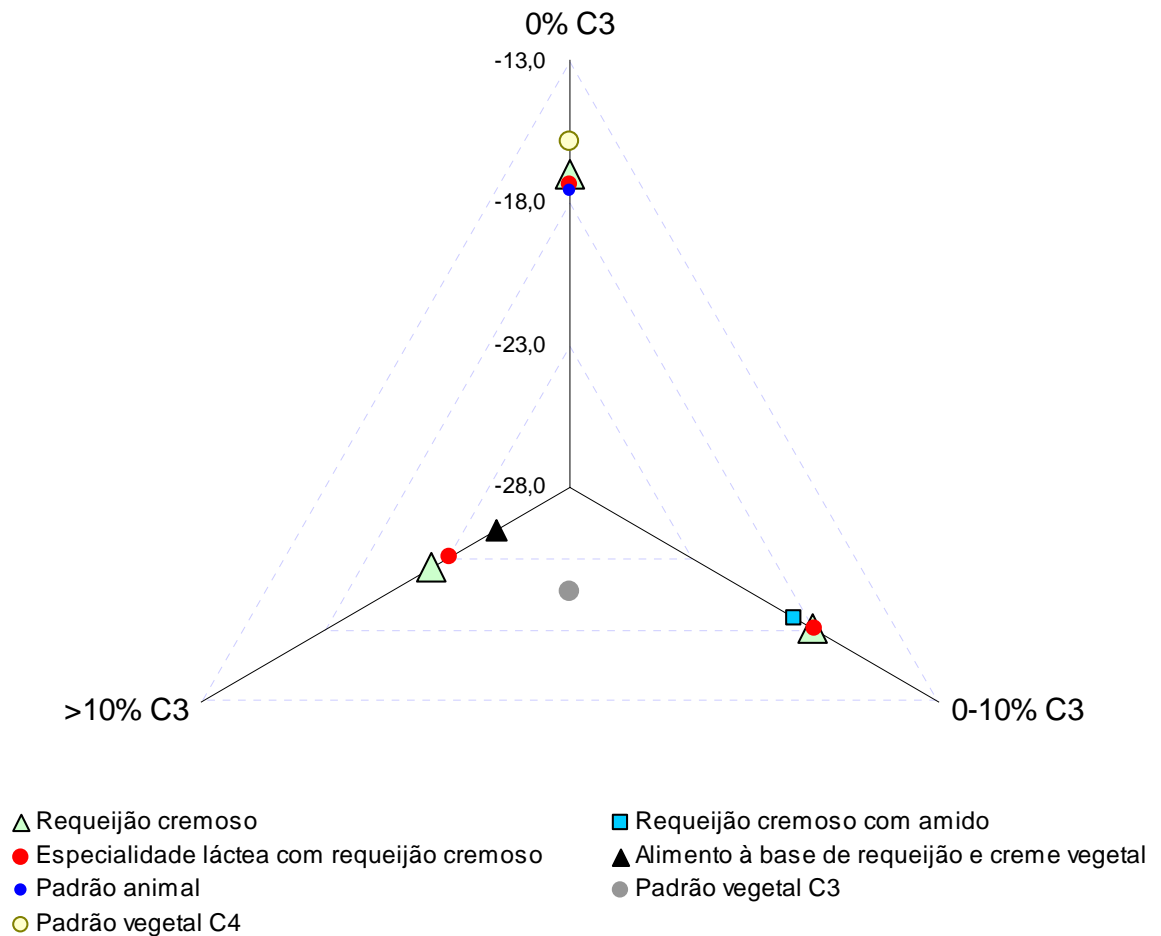


Figura 6 – Valores da média dos produtos analisados, comparados com os padrões

Analisando a figura 6, nota-se que a grande maioria das amostras apresentou valor isotópico próximo ao controle, mantendo-se na faixa de valores entre -19,79‰ e -16,52‰. Apenas cinco amostras (17,86%) de requeijões e similares apresentaram valores mais negativos, na faixa de valores entre -25,05‰ e -21,88‰.

Observando os valores do percentual de C3 das amostras de requeijão e de seus similares calculados, pode-se visualizar na figura 7 a seguir, a tendência dos valores das médias de cada grupo (requeijão cremoso, requeijão cremoso com amido, especialidade láctea com requeijão cremoso, alimento à base de requeijão e creme vegetal, e não identificado) em comparação com os três padrões analisados (óleo de soja, óleo de milho e gordura animal). As médias de cada grupo foram divididas de acordo com o percentual calculado de C3, sendo amostras com 0% de C3, 0-10% de C3 e maior que 10% de C3. As médias das amostras que se apresentaram com valores maiores do que 10% de C3 em sua composição são aquelas que tiveram diferença significativa, conforme já apresentadas nas tabelas e gráficos anteriores de cada grupo.



A distribuição dos três padrões (animal, vegetal C3 e vegetal C4) podem ser visualizados na figura 7 e observam-se quais foram as médias das amostras que tenderam a seus valores, isto é, qual grupo se aproximou mais de sua origem.

Ainda na figura 7, pode-se observar que o grupo requeijão cremoso apresentou amostras com tendência nos três percentuais apresentados (0% de C3, 0-10% de C3 e >10% de C3). A média das amostras XV e XVI representou mais do que 10% de C3 do requeijão cremoso, as quais foram diferentes significativamente.

A especialidade láctea também teve a mesma tendência do requeijão cremoso, sendo uma média em cada percentual. Nesse grupo, foi a amostra XXII com valor maior que 10% de C3 em sua composição. O tipo requeijão cremoso com amido apresentou

sua média apenas entre 0 e 10% de C3, enquanto que o alimento à base de requeijão e creme vegetal teve sua média maior (amostra XXVII) do que 10% de C3 (figura 7).

A única amostra não identificada (amostra XXVIII), a qual também apresentou diferença significativa, não está na figura 7. Mas, tendo seu valor isotópico, é possível supor a origem do glicerol que a compõe, isto é, a média dessa amostra não identificada estaria representada, nesta figura, no valor maior do que 10% de C3.

Na análise dos padrões para o experimento, pode ser notada a diferença no valor isotópico ( $\delta^{13}\text{C}$ ) do glicerol das três fontes distintas, óleo vegetal C4 (milho), óleo vegetal C3 (soja) e gordura animal (leite de vaca). Isso permitiu identificar a origem da matéria graxa dos requeijões e similares analisados (VAN DENDER, 2006a) abrindo a possibilidade da utilização da metodologia isotópica na identificação de adulteração de produtos lácteos no Brasil.

Pode-se afirmar que com a utilização da metodologia isotópica a identificação da origem do produto permite a classificação e a detecção de fraudes. A grande maioria dos requeijões e similares apresentou valores próximos ao do controle correspondendo ao que prevê a legislação. Já as amostras significativamente diferentes na análise estatística podem ser consideradas suspeitas de adição de gordura de outra origem que não a animal. Das 28 marcas de requeijões e similares analisadas (requeijão cremoso, especialidade láctea com requeijão cremoso, alimento à base de requeijão e creme vegetal, requeijão cremoso com amido e não identificado), 5 marcas apresentaram resultados com diferença significativa.

A ampla faixa de variação dos valores isotópicos de algumas amostras pode ser reflexo da alimentação do gado, pois, dependendo do manejo existem animais que consomem exclusivamente pasto e outros que, criados em regime de confinamento recebem ração composta por farelo de soja, casca de soja, polpa de citros, cana, bagaço de cana, farelo de algodão, caroço de algodão, grão do milho, grão do sorgo, planta inteira de milho ou sorgo (informações do Departamento de Zootecnia da Esalq). Portanto, as dietas mudam muito e são sempre balanceadas, sendo que muitas vezes têm em diferentes proporções vários destes ingredientes. Raramente as dietas tem menos do que 5 ingredientes, com adição de macro e micro minerais e vitaminas.

Com essa informação, não é possível saber exatamente a origem do leite que é direcionado a todas as indústrias do país, pois o gado é alimentado de acordo com a região, produtor, clima, condições financeiras entre outros fatores. É importante destacar que as indústrias não têm o controle disso quando o leite é recebido na fábrica. Portanto, isso confirma com a variação de resultados pela influência da alimentação do gado ser tão distinta, ainda mais em um país tão imenso como o Brasil.

## 5 CONCLUSÃO

Nesse estudo, pode-se confirmar a aplicação da metodologia isotópica para identificar a origem dos gliceróis em gorduras presentes em requeijões e seus similares, oferecendo uma nova ferramenta no controle de qualidade de produtos lácteos, podendo auxiliar no recebimento da matéria-prima como do produto final do laticínio. Essa técnica é uma alternativa eficiente, rápida e confiável para empresas e seus colaboradores controlarem seus produtos de acordo com a legislação, facilitando até para o mercado exterior, o qual, geralmente, é bem exigente quando importa algum produto brasileiro. O preparo das amostras pode ser conduzido de forma precisa, simples, rápida, segura, econômica e adequada para grande número de amostras através do método de separação rápida (centrifugação), facilitando sua utilização pela indústria.

Em uma análise mais ampla a metodologia isotópica ainda é bem pouco utilizada e considerada cara em alguns casos na área de alimentos no Brasil, mas pelo seu potencial analítico existem possibilidades reais de uma maior utilização em vários setores da indústria alimentícia nacional.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS. ABIQ. **Notícias**.

Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em: 17 out. 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGEM. ABRENEWS. **Notícias**. Disponível em:

<<http://www.abre.org.br>>. Acesso em: 23 nov. 2006.

ANTOLOVICH, M.; LI, X.; ROBARDS, K. Detection of Adulteration Australian Orange Juices by Stable Carbon Isotope Ratio Analysis (SCIRA). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.49, p.2623-2626, 2001.

BAUMAN, H.; BÜHLER, M.; FOCHEM, H.; HIRSINGER, F.; ZOEBELIN H.; FLABE, J. Natural Fats and Oils – Renewable Raw Materials for the Chemical Industry.

**Angewandte Chemie International Edition**, London, v.2, p.42-62, 1988.

BOCKISCH, M. **Fats and oils handbook**. Champaign: AOCS Press, 1998. 838p.

BOUTTON, T.W. Stable carbon isotope ratios of natural materials: II. Atmospheric, terrestrial, marine, and freshwater environments. In: COLEMAN, D. C.; FRY, B. (Ed.). **Carbon isotope techniques**. New York: Academic Press, 1991. v.11, p.173-185.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA.

Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 09 ago. 2005.

CAMPOS, L.M.A; LIPHAUS, B.L., SILVA, C.A.A; PEREIRA, R.M.R. Osteoporose na infância e na adolescência. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.79, n.6, p. 481-488, 2003.

DE MAN, J.M. **Principles of food chemistry**. Westport: The AVI, 1976. 426p.



DEUEL, JR., H.J. **The Lipids: their chemistry and biochemistry**. New York: Interscience Publishe, 1951.

DONER, L.W. Verifying the authenticity os plant-derived materials by stable isotope radio and chromathographic methodologies. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v.74, p.14-19, 1991.

EMBRAPA. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br>>. Acesso em 25 set. 2006.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon isotope discrimination and photosyntesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.40, p.503-537, 1989.

FENG, S.; LOCK, A.L.; GARNSWORTHY, P.C. Technical Note: A Rapid Separation Method for Determining Fatty Acid Composition of Milk. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.87, n.11, p.3785-3788, 2004.

FERNANDES, A.G.; MARTINS, J.F.P. Fabricação de requeijão cremoso a partir de massa obtida por precipitação ácida a quente do leite de búfala e de vaca. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.35, n.212, p.7-13, 1980.

FERNANDES, A.G.; MARTINS, J.F.P; BALDINI, V.L.S. Desenvolvimento de parâmetros tecnológicos para o processamento de requeijão com leite de búfala (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. In: ENCONTRO SOBRE BUBALINOS, 1979. Araçatuba: Sociedade Brasileira de Zootecnia e Faculdade de Medicina Veterinária de Zootecnia; UNESP, 1979. p.114-144.

FRONZA, G.; FUGANTI, C.; GRASSELLI, P.; SERRA, S.; RENIERO, F.; GUILLOU, C.  $\delta^{13}\text{C}$  - and  $\delta^{18}\text{O}$  - Values of glycerol of food fats. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, London, v.15, p.763-766, 2001.

FRONZA, G.; GRASSELLI, P.; RENIERO, F.; GUILLOU, C.; BREAS, O.; SADA, E.; ROSSMANN, A.; HERMANN, A. Determination of the  $^{13}\text{C}$  Content of Glycerol Samples of Different Origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.46, p.477-480, 1998.

FUNDAÇÃO INSTITUTO DE PESQUISAS ECONÔMICAS (FIPE). **Estudo de despesa familiar da Grande São Paulo**. São Paulo: 1999. 4 CD-ROM.

GALLINA, D.A. **Influência do tratamento UHT na qualidade do requeijão cremoso tradicional e light**. 2005. 235p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

GUILLOU, C.; REMAUD, G.; MARTIN, G.J. Application of deuterium NMR and isotopic analysis to the characterization of foods and beverages. **Trends in Food Science Technology**, Ontario, v.2, n.4, p.85-89, 1991.

HAMMOND, E.G.; GLATZ, B.A. **Food biotechnology**. KLING, R.D.; CHEETHAM, P.S.J., (Ed.). New York: Elsevier Publishers, 1998. v.2, p.173-217.

HANAHAN, D.J. **Lipid chemistry**. New York: John Wiley, 1960. 325p.

HARA, A.; RADIN, N.S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, New York, v.90, p.420-426, 1978.

HILDITCH, T.P.; WILLIAMS, P.N. **The chemical constitution of natural fats**. 4<sup>th</sup> ed. London: John Wiley and Sons, 1964. 745p.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) – <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/requeijao.asp#objetivo>. (22 Mai. de 2007).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos Familiares, 1995/1996**: regiões metropolitanas: Brasília (DF) - Município de Goiânia. Rio de Janeiro, 1998. p.22-31. (Consumo alimentar domiciliar per capita, v.2).

ITO, M.S.B. **Tabela brasileira de composição de alimentos – USP**: Banco de dados de alimentos industrializados. 2003. 206p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

JOHNSTON, P.V. Basic lipid methodology. **Special Publication 19 – College of Agriculture University of Illinois Urbana-Champaign**, 1971.

LAB NOTES. Effective Cooling System in Bulb-to-Bulb Distillation. **Aldrichimica ACTA**, Milwaukee, v.33, n.3, p.86, 2000.

MARCHIORI, E. Salvem o requeijão. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.10, n.58, p.56-63, 2005.

MARKLEY, K.S. **Fatty acids**. New York: John Wiley, 1960. v.1.

\_\_\_\_\_. **Fatty acids**. New York: John Wiley, 1961.v.2.

MARTIN, G.L.; MARTIN, M.L. Stable isotope analysis of food and beverages by NMR spectroscopy. **Annual Reports on NMR Spectroscopy**, London, v.31, p.91-104, 1995.

MASUD, Z.; VALLET, C.; MARTIN, G. Stable Isotope Characterization of Milk Components and Whey Ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.47, p.4693-4699, 1999.

MILAGRES, M.P.; DAHER, G.C.; DUARTE, S.R.S.; PAULA, S.A.; FURTADO, M.M. Desenvolvimento de requeijão “light” com adição de fibras. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.10, n. 58, p.88-90, 2005.

NOVA LEGISLAÇÃO DE PRODUTOS LÁCTEOS. São Paulo: Revista Indústria de Laticínios, 2002. 327p.

OLIVEIRA, A.C.B.; SALIMON, C.I.; CALHEIROS, D.F.; FERNANDES, F.A.; VIEIRA, I.; CHARBEL, L.F.; PIRES, L.F.; SALOMÃO, M.S.M.B.; NOGUEIRA, S.F.; VIEIRA, S.; MOREIRA, M.Z.; MARTINELLI, L.A.; DE CAMARGO, P.B. Isótopos estáveis e produção de bebidas: de onde vem o carbono que consumimos? **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.3, p.285-288, 2002.

REQUEIJÃO CREMOSO E ESPECIALIDADE LÁCTEA. **Revista Entre Nós**, Ribeirão Preto, v.2, n.7, p.9, 2004.

RAPACCI, M. **Estudo comparativo das características físicas e químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e acidificação direta**. 1997. 144p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

RAPACCI, M.; VAN DENDER, A.G.F. Estudo comparativo das características físicas e químicas e do grau de demineralização de diferentes tipos de massas utilizadas no processamento de requeijão cremoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.53, n.304, p.223-237, jul./ago, 1998.

ROSSI, N. F.; MARTINELLI, L.A.; LACERDA, T.H.M.; CAMARGO, P.B.; VICTÓRIA, R.L. Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a composição isotópica de carbono. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.2, p.199-204, 1999.

ROSSMANN, A.; HABERHAUER, G.; HOLZL, S., HORN, P.; PICHLMAYER, F.; VOERKELIUS, S. The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. **European Food Research Technology**, Berlim, v.211, p.32, 2000.

SCHIMIDT, H.L. Food quality control and studies on human nutrition by mass spectrometric and nuclear magnetic resonance isotope ratio determination. **Fresenius's Zeitschrift fur Analytische Chemie**, Wisbaden, v.324, p.760-766, 1986.

SILVA, A.T. **Fabricação de requeijão cremoso e de requeijão cremoso "light" a partir de retentado de ultrafiltração acidificado por fermentação ou adição de ácido láctico**. 2003. 237p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SILVA, C.A.B.; FERNANDES, A.R. **Projetos de empreendimentos agroindustriais: produtos de origem animal**. Viçosa: UFV, 2003. v.1. 308p.

VAN DENDER, A.G.F. **Alternativas tecnológicas para fabricação de requeijão cremoso e queijos fundidos**. Campinas: ITAL, 2000. cap.5. p.1-16.

\_\_\_\_\_. **Fabricação de requeijão cremoso com adição de fibras funcionais**. Campinas, maio de 2006b. 1 CD-ROM. (Palestra, 10).

\_\_\_\_\_. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado**. São Paulo: Fonte Comunicações, 2006a. 391 p.

VAN DENDER, A.G.F., BOSI, M.G., CONRADO, P.B. Fibra alimentar e a sua utilização na fabricação de produtos lácteos funcionais. **Leite & Derivados**, São Paulo, v.14, n.82, p. 107, 108, 110, 112-114, jan./fev., 2005a.

VAN DENDER, A.G.F., BOSI, M.G., CONRADO, P.B., YOTSUYANAGI, K., ANJOS, V.D.A. Análise do perfil de textura e características físico-químicas de requeijão cremoso *light* com fibra alimentar. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.60, n.345, p.404-409, jul./ago., 2005b.

WEBER, D.; KEXEL, H.; SCHIMIDT, H.L.  $^{13}\text{C}$ -Pattern of Natural Glycerol: Origin and Practical Importance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.45, p.2042-2046, 1997.

YOUNG, F.V.K.; POOT, C.; BIERNOTH, E.; KROG, N.; O'NEIL, L.A.; DAVISON, N.G.J. In: GUNSTONE, F.D., HARWOOD, J.H., PADLEY, B.F. (Ed.). **The lipid handbook**. London: Chapman and Hall, 1986. p.242.

ZHANG, B.L.; BUDDRUS, S.; TIERWEILER, M.; MARTIN, G.J. Characterization of Glycerol from Different Origins by  $^2\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR Studies of Site-Specific Natural Isotope Fractionation, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.46, p.1374, 1998.

**ANEXOS**

## ANEXO A



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.  
SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA – SDA.  
DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

OFÍCIO CIRCULAR/DIPOA/SDA Nº 45

Brasília, 20 de dezembro de 2005.

Ao Senhor.

Superintendente Federal de Agricultura.

Referência: Adequação da Denominação de Venda do produto Especialidade Láctea.

Senhor Superintendente,

Em razão do levantamento procedido pela Divisão de Inspeção de Leite e Derivado – DILEI nos produtos constantes da relação do Anexo I, foi constatado que esses mesmos produtos foram aprovados com diversas denominações e memoriais descritivos de fabricação semelhantes, que os caracterizam como Requeijão, aprovado pela Portaria Nº 359, de 04 de setembro de 1997.

Em síntese, o processo de fabricação desses produtos caracteriza-se pelas seguintes etapas:

- Pasteurização do leite adicionado de fermento láctico e/o coalho;
- Repouso para formação da coalhada;
- Corta ou quebra da coalhada,
- Dessosagem;
- Lavagem da massa;
- Aquecimento para remoção total do soro da massa ;
- Fusão da massa;
- Adição de ingredientes/aditivos (manteiga, sal, concentrado protéico, amido estabilizante, conservador, emulsificante);
- Aquecimento (85 a 90°C) e; adição de creme de leite e a gordura vegetal;
- Aquecimento ( 90º a120°C)
- Envase.

Considerando o que determina o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Requeijão previsto na Portaria Nº 359, de 04 de setembro de 1997, a qual internalizou a Resolução GMC Nº 82/96, que aprovou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Requeijão ou Requesõn.

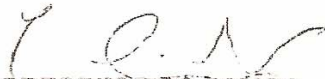
Assim sendo, o DIPOA, entende que os produtos com o citado processo de fabricação devem receber a denominação de venda de Requeijão Com....., Requeijão



Cremoso Com....., e Requeijão de Manteiga ou Requeijão do Norte Com....., conforme estabelecida no item 9 da mencionada portaria.

Neste contexto, solicitamos a V. S<sup>a</sup> que determine ao SIPAG as ações pertinentes, ou seja, para que este atue nos estabelecimentos envolvidos, conforme relação ( Anexo II) , a fim de que seja suspensa a produção dos produtos com a denominação constante no Anexo I até que estes tenham a suas nomenclaturas regularizadas junto a DILEI/CGI/DIPOA.

Atenciosamente,



ARI CRESPIM DOS ANJOS  
DIRETOR SUBSTITUTO DIPOA/SDA/MAPA



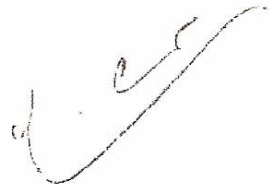
MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.  
SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA – SDA.  
DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

ANEXO I

PRODUTOS COM MEMORIAL DESCRITIVO DE FABRICAÇÃO CITADO NO OFÍCIO  
CIRCULAR/DIPOA/SDA Nº , DE 22/12/2005

- Especialidade Láctea,
- Alimento à Base de Requeijão e Óleos Vegetais,
- Alimento à Base de Requeijão Cremoso,
- Alimento à Base de Requeijão e Creme Vegetal,
- Composto Alimentar à base de Requeijão,
- Cremio,
- Cremio light Cremoso,
- Especialidade Láctea à base de Requeijão Cremoso e Amido,
- Canto de Minas Pastoso, Especialidade Láctea – Sabor Requeijão,
- Especialidade Láctea com Requeijão Cremoso – sabor Ervas Finas,
- Especialidade Láctea com Requeijão Cremoso Light,
- Especialidade Láctea com Requeijão Cremoso,
- Especialidade Láctea com Requeijão Cremoso,
- Purcheddar/Requeminas com Queijo cheddar,
- Pastoso Canto de Minas - Sabor 4 queijos,
- Pastoso Canto de Minas -Sabor Cheddar,
- Rekremoso,
- Recremoso,
- Reque,
- Reque-Cream, Reque-Cheddar/Rek-Cream com queijo cheddar,
- Reke,
- Rek Forte,
- Requeminas,
- Reke-Sabor cheddar com Ervas Finas,
- Reke Minas Cremoso,
- Reke La Porcela,
- Rekepizza,
- Reke Sulminas,
- Reke Lalys,
- Requemilho,
- Requemino Cremoso,
- Requelini Cremoso,
- Requeibão,
- Rekaïjon,
- Gourmet cheese,
- Rekecream Sabor cheddar,
- Requeilora Light ,
- Requeicream,

- » Requeipizza,
- » Requeillora,
- » Requeicream com queijo cheddar,
- » Requeicream com queijo tipo gorgonzola,
- » Requeicream com queijo tipo provolone
- » Requemilk,

A handwritten signature or mark, possibly initials, written in black ink. It consists of a series of connected, fluid strokes that are difficult to decipher as specific letters.

## Anexo III

## Relação dos Estabelecimentos Fabricantes dos Produtos a Base de Gordura Vegetal e Amido.

SIF	Razão Social	Estado
0084	Victoria Indústria e Comércio de Alimentos	Palhoça – SC
0079	Lactoplasa Indústria de Laticínios Planalto S/A	Lages – SC
0190	Coop. Sul-Rio Grand. Latic. Ltda Consulat	Pelotas – RS
0277	Dairys Partners Américas Brasil Ltda	Barra Mansa – RJ
0334	Com. Ind. De Laticínios Luso Brasileiro Ltda	Riso das Flores – RJ
0514	Real Comércio de Laticínios Ltda	Bom Jardim de Minas – MG
0546	Indústria de Laticínios Coronata Ltda	Coromadel – MG
734	Laticínios B.P. Ltda – ME	Três Rios – RJ
0829	Laticínios Suiminas Ltda	Silvianópolis – MG
0873	Usina de Beneficiamento de Leite Lacto Ltda	Cruzeiro do Oeste – PR
2170	Indústria e Com. De Laticínios Braganey Ltda	Braganey – PR
2630	Laticínios Carolina Ltda	Ribeirão Claro – PR
2633	Marfin Ind. E Com. De Prod. Alim. Ltda	Varginha – MG
3322	Milk Life Produtos Lácteos	Nossa Senhora da Glória – SE
3369	Agroindústria e Com. Serra Negra Ltda	Lima Duarte – MG
3597	Mileite Ind. E Com. De Alimentos Ltda	Formiga – MG
3886	Laticínios Sabor de Minas Ltda	Frutal – MG
4025	Laticínios P & F Valência Ltda	Valença – RJ
4091	Agro-Indústria Guarani Ltda	Guarani – MG
4505	Lactril Lácteos Triângulo Ltda	Campina Verde – MG

*200*  
*1/10*

**Relação dos Estabelecimentos Fabricantes dos Produtos a Base de Gordura Vegetal e Amido.**

<b>SIF</b>	<b>Razão Social</b>	<b>Estado</b>
0009	Entreminas Ind. e Com. de Laticínios Ltda	Itapagipe – MG
0041	IVP Industrial Vale do Paraíba Ltda	Resende – RJ
0238	Laticínios Oscar Salgado Ltda	Trindade – GO
0342	Laticínios MB Ltda	São José do Lopes – MG
0344	Danone Ltda	Poços de Calda – MG
1340	Laticínios Rancharia Ltda	Rancharia – SP
1349	Laticínio Matinal Ltda	Catanduba – SP
2042	Magaleite Ind. Com. Prod. Lâcteos Ltda	Lins – SP
2467	Scarcelli Companhia Ltda	Cambuí Ltda
2469	Coop. Agropecuária do Noroeste de Mato	Araputanga – MT
2527	Vereda Alimentos Ltda	Guarará – MG
3091	Dan Vigor Ind. e Com. Latic. Ltda	Cruzeiro – SP
3100	Laticínios Vale do Pardo Ltda	Bataguassu – MS
3124	Indústria de Laticínios Bandeirantes Ltda	Bandeira do Sul – MG
3164	Ind. de Lat. Palmeira dos Índios S/A IILPISA	Palmeira dos Índios AL
2269	Ind. e Com. de Lat. Alvorada Ltda EPP	Dracena – SP
4561	Ind. e Com. de Lat. Florescer Ltda	Iepé – SP
0622	Santa Marina Agropecuária Comercial S/A	Poços de Caldas – MG
4045	Indústria de Laticínios Claveaux Ltda	Aparecida de Goiânia – GO

*200*


10/1  
Ana

**Relação dos Estabelecimentos Fabricantes dos Produtos a Base de Gordura Vegetal e Amido.**

<b>SIF</b>	<b>Razão Social</b>	<b>Estado</b>
3838	Anny Com. e Ind. Prod. Lácteos Ltda	Caldas – MG
3421	Laticínios Brasília Ltda	Campanha – MG
1455	Cooperativa Central Leite Nilza	Capetinga – MG
0978	S/A Fábrica de Produtos Alimentícios VIGOR	São Gonçalo do Sapucaí – MG
0389	Apreciara Alimentos Ltda	Sete Lagoas – MG
3782	Laticínios Canto de Minas Ltda	Ituiutaba – MG
3602	Promitac Ind. e Com. de Laticínios Ltda	Promissão – SP
3099	Laticínios da Mata Ind. e Com. Ltda	Miradouro – MG
1799	Bom Retiro Com. e Pasteurização de leite Ltda	Urupês – SP
4392	Fazenda Frutal Prod. Alimentícios Ltda	Frutal – MG

L. 15

## ANEXO B



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**  
**SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA**  
**DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**  
**GABINETE DO DIRETOR**

16/01/2006

Ofício Circular /DIPOA Nº 03

Do: **Diretor do DIPOA**

Aos: **Srs. Superintendentes Federais da Agricultura e Chefes dos Serviços de Inspeção Agropecuária**

Assunto: **Adequação da denominação de venda do produto especialidade láctea**

Prezados (as) Senhores (as),

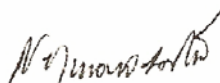
Em atendimento a diversos expedientes solicitando um prazo para que as empresas utilizem as embalagens dos produtos relacionados em lista anexa ao Ofício Circular DIPOA/SDA nº 45/2005, estabelecemos o prazo até o dia 15 de abril de 2006 para que as empresas ajustem a rotulagem a Portaria nº 359, de 04 de setembro de 1997. Ademais, a utilização das rotulagens anexas fica condicionada a colocação das expressões "CONTÉM GORDURA VEGETAL" ou "CONTÉM AMIDO ou CONTÉM AMIDO E GORDURA VEGETAL" no painel principal do produto e em destaque, de acordo com o processo tecnológico aprovado. Essa expressão poderá ser incluída no rótulo através de um adesivo, sem a necessidade de prévia aprovação.

De acordo com a Resolução nº 2, de 22 de maio de 2000, que determinou a descentralização para os SIPAGs do registro de leite e produtos lácteos definidos em regulamento técnico, as alterações e os próximos registros deverão ser realizados pelos SIPAGs. Ressaltamos que qualquer produto que apresente o processo de fabricação igual

ao descrito no Ofício Circular nº 45, mesmo que não conste no anexo daquele ofício, também deverão ser registrados conforme RTIQ do Requeijão.

O SIPAG deverá informar às empresas que estas não poderão imprimir rótulos em desacordo com a Portaria nº 359 e que os próximos processos deverão ser encaminhados diretamente para os SIPAGs.

Atenciosamente,



**Nelmon Oliveira da Costa**  
Fiscal Federal Agropecuário  
Diretor do DIPOA/SDA



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)