

## UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

# CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS DEPARTAMENTO DE QUÍMICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Monitoramento do Teor de Ácido Linoléico
Conjugado (CLA) da Ordenha do Leite Bovino
ao iogurte



Dissertação apresentada por: Oscar de Oliveira Santos Júnior ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química

## **Livros Grátis**

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.



Este é o exemplar definitivo da Dissertação apresentada por Oscar de Oliveira Santos Junior, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 23 de março de 2010.

#### **COMISSÃO JULGADORA:**

Prof. Dr. Nilson Evelázio de Souza Presidente - DQI/UEM

Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer Membro - DQI/UEM

Profa. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante Membro - FEA/UNICAMP

#### Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP) (Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S237m

Santos Júnior, Oscar de Oliveira
Monitoramento do teor ácido linoléico conjugado
(CLA) da ordenha do leite bovino ao iogurte. / Oscar
de Oliveira Santos Júnior. -- Maringá, 2010.
xv, 39 f.: il. figs., tabs., esquemas.

Orientador : Prof. Dr. Nilson Evelázio de Souza. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2010.

1. Ácido linoléico conjugado (CLA) - Leite. 2. Ácido linoléico conjugado (CLA) - Iogurte. 3. Ácido linoléico conjugado (CLA) - Pasteurização. I. Souza, Nilson Evelázio de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDD 21.ed. 547.77

### UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

## MONITORAMENTO DO TEOR DE ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO (CLA) DA ORDENHA DO LEITE BOVINO AO IOGURTE

Dissertação para obtenção do grau de Mestre Orientador: Prof. Dr. Nilson Evelázio de Souza

## **LINHA DE PESQUISA**

## **QUÍMICA DE ALIMENTOS**



#### **AGRADECIMENTOS**

A Maria José, esposa amada, pelo amor altruísta, que aceitou a ausência e a distância, incentivou o crescimento, enxugou as lágrimas e sempre estendeu as mãos.

À minha família, meus pais, Oscar e Elisabete, meu irmão Juliano, que mesmo distantes apoiaram e incentivaram este processo.

Ao meu orientador, professor Nilson, que aceitou ser meu orientador mesmo sabendo que não poderia me dedicar exclusivamente à pesquisa, estendeu as mãos e hoje, proporcionou-me crescimento profissional.

Às amigas Paula e Francielle, pela mão estendida em todos os momentos necessários.

Às amigas Gisele, Marcela, e Ângela, pelo apoio.

Aos colegas do Laboratório, que ainda estão ou que já venceram sua jornada, que ensinaram, ajudaram, e deram ótimas risadas comigo!

Ao Departamento de Química, que esteve presente em cada etapa da minha formação, especialmente aos seus secretários de graduação e pós, Keite, Rodrigo, Cristina e Claudemir.

Aos professores deste departamento, que são os grandes responsáveis pelo crescimento profissional, especialmente ao Prof. Dr. Jesuí, pelos constantes ensinamentos e ao Prof. Dr. Makoto, que foi meu primeiro orientador de iniciação científica

Ao técnico Dirceu Batista de Souza pela amizade e cooperação no decorrer do trabalho.

A todos aqueles cujos nomes não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse feito.

**MUITO OBRIGADO!!!** 

#### **SUMARIO**

LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE ESQUEMAS	XIII
RESUMO	. XIV
ABSTRACT	XV
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 O leite na história humana	3
2.2 Produção de leite no Brasil e no mundo	4
2.3 Síntese do leite de vaca e seus constituíntes	8
2.4 Ácido linoléico conjugado	12
2.5 Análise por cromatografia a gás dos EMAGs	14
3. OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo geral	17
3.2 Objetivos específicos	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1 Amostragem	18
4.1.1 Leite cru	18
4.1.2 Leite pasteurizado	18
4.1.3 logurte	19
4.2 Métodos	19
4.2.1 Análise Química	19
4.2.2 Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos	20
4.2.3 Identificação e quantificação de ácidos graxos	20
4.2.3.a Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos	20
4.2.3.b Identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos	21
4.2.3.c Avaliação da resposta do detector de ionização de chama	21
4.2.3.d Análise quantitativa dos ésteres metílicos de ácidos graxos	22
4.2.4 Limite de quantificação e detecção	23

4.2.5 Análise estatística2	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO2	<u>'</u> 4
5.1 Composição química do leite cru, pasteurizado e de iogurte	24
5.2 Quantificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos	25
5.3 Composição dos ésteres metílicos de ácidos graxos em lipíd	ios de
amostras de leite cru	27
5.4. Composição dos ésteres metílicos de ácidos graxos em lipídio	os de
amostras de leite após pasteurização	29
5.5. Composição dos ésteres metílicos de ácidos graxos em lipíd	ios de
amostras de iogurte	31
6. CONCLUSÕES	35
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

#### **LISTA DE FIGURAS**

1. Principais produtores mundiais de leite de vaca em 2006 5
2. Produção de leite nos sete principais estados brasileiros em 2008 6
4. Crescimento da produção de leite de vaca no Paraná7
5. Industrialização do leite (SIF) no Brasil em 20077
6. Estrutura do ácido linoléico e dos dois isômeros de CLA com atividade
biológica, <i>c</i> 9 <i>t</i> 11 e <i>t</i> 10 <i>c</i> 1212
7. Cromatograma representativo para os leites27
6. Teor de CLA em mg/200mL de amostra para leite cru, após pasteurização e
iogurte34

#### LISTA DE TABELAS

1. Consumo mundial per capta de leite fluido de 2000 a 2008 8
2. Composição nutricional média do leite de vaca9
3. Composição química dos leites crus, pasteurizados e iogurte coletados no
mês de janeiro de 200924
4. Valores de fator resposta em relação ao tricosanoato de metila26
5. Teor de ácidos graxos em mg/g de lipídios totais para o leites cru coletados
em diferentes semanas do mês de janeiro de 200928
6. Teor de ácidos graxos em mg/g de lipídios totais para o leite após sofrer
processo de pasteurização coletado em diferentes semanas do mês de janeiro
de 2009 30
7. Teor de ácidos graxos em mg/g de lipídios totais para o iogurte coletado em
diferentes semanas do mês de janeiro de 200932

#### **LISTA DE ESQUEMAS**

1. Conversão dos componentes da dieta a componentes do leite	10
2. Produção de CLA em ruminantes	13

#### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi determinar a composição química e quantificar os ácidos graxos presentes em amostras de leite cru, após pasteurização e fabricação de iogurte, com ênfase ao ácido linoléico conjugado (CLA). A técnica utilizada foi a cromatografia a gás, com detector por ionização em chama. Foram analisadas amostras de: leites antes de passarem por tratamento térmico (crus) (n=15), após o tratamento térmico (pasteurizado integrais) (n=15) e de iogurte (n=15). As amostras foram coletadas no mês de Janeiro de 2009 (verão). A análise estatística (Teste Tukey) foi realizada com o software Statistica, versão 7.0. Foi verificada para as análises químicas de cinzas, proteínas e lipídios, influência da pasteurização nos resultados em relação ao leite cru e iogurte. Sendo que este processo ajuda a reduzir o teor de cinzas, proteínas e lipídios do leite pasteurizado. Nota-se também a influência da pasteurização na quantidade do ácido graxo linoléico conjugado (CLA, 18:2c9t11). Além disso, após o tratamento térmico as razões n-6/n-3 significativamente. Assim, infere-se diminuíram que processo pasteurização influi positivamente na composição em ácidos graxos do leite. A análise realizada com o iogurte indicou que a quantidade de CLA na diminuiu em relação ao leite cru e pasteurizado, indicando que o processo de termização da mistura para fabricação do derivado, influencia no teor deste ácido graxo. Em se tratando das somatórias de AGS (ácidos graxos saturados), devido ao processo de estocagem do leite cru em balão isotérmico vertical, isto faz com que o produto não tenha uma boa agitação deixando criar uma camada de gordura em sua superfície, quando este leite é pasteurizado, ele passa por padronizadora, fazendo com que haja uma boa mistura do produto, e segue até tanque isotérmico horizontal, onde a agitação neste tanque é melhor distribuída, com isto temos uma falsa impressão que a pasteurização aumenta o teor de AGS no leite

**Palavras-chave**: ácidos graxos, pasteurização, leite, iogurte, ácido linoléico conjugado, CLA.

#### **ABSTRACT**

The objective of this study was to determine the proximate composition and quantification of fatty acids in dairy products, emphasizing conjugated linoleic acid (CLA). The technique used was gas chromatography equipped with a flame ionization detector. The samples used were: milk before heat treatment (raw milk) (n=15), milk after heat treatment (pasteurized milk) (n=15) and yogurt (n=15). The samples were collected in January 2009 (summer in the Southern Hemisphere). The statistic analyses (Tukey test) have been achieved with Statistics Software 7.0, and the factorial design with Design Expert Software. In the chemical analysis of gray, protein and fatty did even influence significantly of pasteurization in the results, when comparison raw milk, pasteurized milk and yogurt. Did looked that pasteurization reduce the number in the gray, protein and fatty of milk. Did even too influence significantly of pasteurization in the results of Conjugated linoleic acid (CLA, 18:2c9t11). After heat treatment had a reduce significantly the n-6/n-3 ratio we can therefore infer that the heat treatment had a positive influence in the milk fatty acids composition. The analyze do with the yogurt showed that the reduce number of CLA in comparison with raw milk and pasteurized milk, show that heat treatment of mix to the manufacture of dairy influence in the number these fatty acid. To the sum of SFA (saturated fatty acids), had increase when comparison raw milk with pasteurized milk, this is result of stor process of raw milk in vertical tank, this is do with that the milk don't mix, form a cream in the your surface, when this milk is pasteurized, it go for padronization, do with that have a good mix of dairy, and go to the horizontal tank, where the shake this tank is good, with that, we have a wrong impression that the pasteurization increase the number of SFA in milk.

**Key-words**: Fatty acids, milk, pasteurization, yogurt, Conjugated linoleic acid, CLA.

#### 1. INTRODUÇÃO

De todas as cadeias produtivas do setor agropecuário, a que mais se transformou, nos últimos anos, foi a do leite, sendo praticada hoje em todo território nacional. Isto se deve, a esta atividade ser uma importante geradora de empregos, diretos e indiretos em toda a cadeia. O Paraná vem apresentando um expressivo crescimento da produção leiteira, consolidando-se como terceiro estado produtor de leite de vaca do Brasil. Esta expansão foi mais intensa nas regiões Oeste e Sudoeste do Estado, com forte crescimento do rebanho e dos níveis de produtividade. Porém, ainda temos um baixo consumo do produto em relação ao recomendado pela Organização Mundial de Saúde. Isso talvez ocorra porque a gordura de origem animal, da qual grande parte é saturada, estava relacionada a problemas do coração. Apesar de o assunto ter sido desde o início polêmico, a condenação da gordura, principalmente animal, foi adotada com vigor. A objetividade da proposta ("coma menos gordura para não morrer cedo") facilitou a aceitação pela população. Novos estudos têm demonstrado falhas nesta concepção simplista, em especial, a clara noção que tirar conclusões a respeito de gordura de maneira agregada implica em altas probabilidades de incorreções. Um bom exemplo é o caso dos ácidos graxos trans, que são associados epidemiologicamente a aumento de doenças coronarianas. Estudos mostram que há esta relação para fontes vegetais, mas não para gorduras de fonte animal. Fica claro que é necessário caminhar para um grau de desagregação maior, até chegar aos ácidos graxos isoladamente. Neste particular, nenhum exemplo é mais eloquente do que o ácido linoléico conjugado (CLA). Na verdade, existem diversos isômeros de CLA, dois deles, todavia, tomaram nos últimos anos lugar de destaque, nas pesquisas de várias áreas. Um deles é o 18:2 c9t11, normalmente o mais abundante na natureza, e que tem propriedades antitumorais comprovadas em animais de laboratório. O outro isômero em destaque é o 18:2 t10c12, que é um potente inibidor da síntese de gordura no leite. Portanto são duas moléculas com pequenas diferenças de posição e geometria de ligação, mas com ações diversas e intensas no metabolismo animal.

Como o CLA é um produto da biohidrogenação incompleta, alimentos de origem de ruminantes, são as principais fontes de CLA na dieta humana. Assim após anos de condenação a produtos lácteos, a existência de um componente potencialmente tão benéfico pode ser a chance para uma nova percepção por parte dos consumidores e pela comunidade médica dos alimentos de origem animal. Conhecida a quantidade média dessas substâncias nestes produtos, pode-se 2estabelecer um parâmetro seguro de ingestão das mesmas, que seja benéfico quanto à ingestão de CLA e também dos ácidos graxos saturados.

Entretanto, não existem dados até o momento da influência do processo de pasteurização, na composição em ácidos graxos do leite e de seus derivados, apesar de muitas pesquisas terem sido realizadas nos últimos anos sobre o efeito dos processos térmicos utilizados para conservação de leite e seus derivados nas propriedades nutricionais e organolépticas.

Neste trabalho, foi verificada a influência do processo de pasteurização e fermentação do leite no preparo de iogurte em relação ao teor de ácidos graxos, contido em leite cru, em especial o CLA.

Além disso, procurou-se ainda, quantificar os ácidos graxos presentes em leite cru, após este passar pelo processo de pasteurização e em seguida, após sofrer fermentação para fabricação de logurtes, de forma que o leitor possa ao final, conhecer em média, a origem e a quantidade dos ácidos graxos que está ingerindo através de sua alimentação.

#### 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 O leite na história humana

A aproximação do homo sapiens com o leite ocorreu provavelmente com as cabras, fato testemunhado em desenhos rupestres, datados de 20.000 a.C., nos quais as cabras são representadas como animais comumente caçados (Ctena e Piroli, 1999).

O primeiro registro histórico e concreto da utilização do leite como alimento é uma peça encontrada em Tell Ubaid, atual Iraque, datada de 3.100 a.C., conhecida como Friso dos ordenhadores. Nela, podem ser constatadas não só a ordenha mas também a filtragem do leite (Ctena e Piroli, 1999).

Quando os descobridores chegaram à América, não encontraram no Novo Continente o gado bovino. Os primeiros dessa espécie foram introduzidos no Brasil em 1534 por Martin Afonso de Souza, trazidos nas navegações do século XVI para fornecer carne e leite durante a viagem, depois nova remessa foi trazida por Tomé de Souza em 1550 e espalhada pelas capitanias do Nordeste e de lá para o centro do país.

Em 1703 após passar um longo período de tempo na Europa onde adquiriu os conhecimentos e equipamentos necessários, o Dr. Antônio Pereira de Sá Fortes montou a primeira fábrica de laticínios mecânica do país. Embora já existissem no Brasil fábricas de Laticínios rudimentares desde o início da criação do gado bovino (Rocha, 2007).

Mas até então não se havia maneira de conservação do leite, como ele é um alimento frágil fazia-se iogurte e queijos como formas de prolongar sua vida de prateleira. Uma revolução na conservação do leite, e a primeira que o manteve em seu estado original, aconteceu em meados do século XIX com Louis Pauster, cientista francês que desenvolveu a pasteurização. Esse método é um tipo de processamento no qual o leite é submetido a elevadas temperaturas, atingindo de 72 °C a 76 °C, durante 15 a 20 segundos. Em seguida, ele é imediatamente resfriado. O resultado é um leite sem bactérias que causam doenças. Para manter sua qualidade, no entanto, é preciso transportá-lo e armazená-lo em baixa temperatura. Em meados do século XX, foi desenvolvida uma segunda técnica revolucionária: a ultrapasteurização.

Nesse tipo de processamento o leite é tratado a temperaturas mais altas, até 150 °C, porém, por um tempo muito mais curto - de 2 a 4 segundos. Em seguida ele é imediatamente resfriado. O resultado é um leite totalmente sem bactérias. Quando associado ao envase asséptico, dá origem ao leite longa vida. A vantagem desse leite é ser conservado em temperatura ambiente por até seis meses, tornando-o mais adequado e conveniente com a vida moderna. Além de ser muito seguro para a saúde da população, (Tetra Pak, 2010).

Nos dias de hoje, a agroindústria leiteira ganhou espaço. O consumo de leite e derivados como queijos e iogurtes, vem crescendo dia a dia. Dentre os principais produtos agropecuários, o leite possui lugar de destaque. É alimento fundamental na alimentação humana, por ser fonte importante de nutrientes, como o cálcio e a proteína animal.

Ao longo da história, a busca cotidiana do ser humano para conservar o leite levou-o à criação de inúmeros produtos que se estabeleceram como categorias próprias. Muito saborosos e nutritivos, diga-se, de passagem. Sendo o principal o iogurte. O valor nutricional deste se assemelha muito ao do leite, sendo, portanto uma excelente fonte de cálcio, proteínas, fósforo e vitaminas do complexo B.

Entende-se por iogurte o produto adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, obtido por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos (*Lb. delbrueckii subs. bulgaricus e Streptococcus thermophilus*). Estes microrganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final em quantidade mínima de 10<sup>7</sup>colônias por grama de produto durante seu prazo de validade (Tetra Pak, 2010).

#### 2.2. Produção de leite no Brasil e no mundo

De todas as cadeias produtivas do setor agropecuário, a que mais se transformou, nos últimos anos, foi a do leite, sendo praticada hoje em todo território nacional. O Brasil ocupou em 2006, a sexta posição na classificação mundial dos principais países produtores de leite de vaca (figura 01), produzindo 25,4 milhões de litros de leite. Os Estados Unidos da América,

primeiro lugar nesta classificação, produziram 82,5 milhões de litros, seguidos pela Índia, com 39,8 milhões de litros de leite. (FAO, 2010).

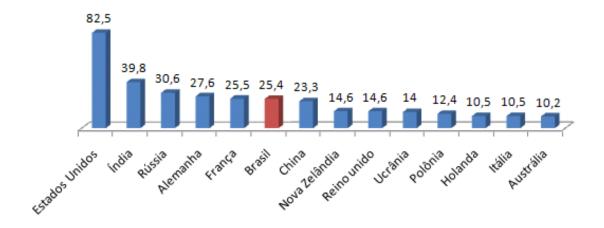


Figura 01: Principais produtores mundiais de leite de vaca em 2006 ,em milhões de litros. Fonte: FAO,2010

Embora o Brasil seja o sexto maior produtor de leite de vaca do mundo, em termos de produtividade alcança apenas a vigésima primeira posição mundial. Com um rebanho de cerca de 20 mil cabeças de vacas ordenhadas, sua produtividade média é de apenas 1,2 mil litros/vaca/ano. Este valor representa uma quantia 7,5 vezes menor que a verificada nos Estados Unidos, topo da classificação de produtividade mundial com 9,0 mil litros/vaca/ano (FAO, 2010).

Analisando a produção de leite de vaca dos sete principais estados Brasileiros em 2008 (figura 02), o Paraná se apresenta na terceira colocação em termos de produção com 2,9 milhões de litros de leite. O maior produtor nacional, neste mesmo ano, foi o Estado de Minas Gerais, com uma produção de 7,5 milhões de litros, seguido pelo Rio Grande do Sul com 3,1 milhões de litros.

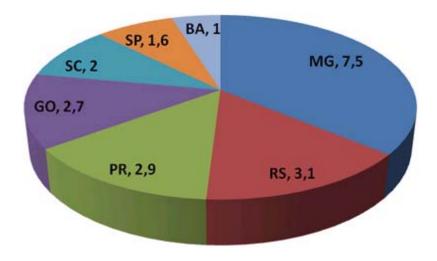


Figura 02: Produção de leite nos sete principais estados brasileiros em 2008. Fonte: Embrapa Gado de Leite, 2010.

O gosto pela bovinocultura de leite dos paranaenses veio como herança da população européia que se firmou no estado principalmente na cidade de Castro. Foram os imigrantes holandeses, que em 1951, pela falta de oportunidades e terras com o final da 2º Grande Guerra Mundial, se instalaram com o gado leiteiro, equipamentos e todo um conhecimento técnico vindo da Central de Imigrantes da Holanda (Embrapa Gado de Leite, 2010)

Em dezessete anos, de 1990 a 2007, enquanto a produção de leite, no Brasil, passou de 14,5 milhões de litros para 26,4 milhões, crescimento de 82%, a produção do Paraná passou de 1,16 milhões de litros para 2,9 milhões, crescimento de 150%, dados que podem ser vistos na figura 03

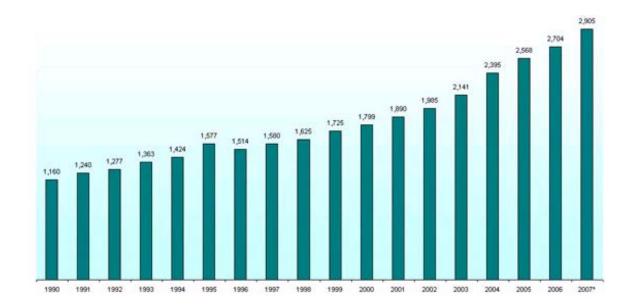


Figura 03: Evolução da produção de leite no Paraná (milhões de litros) de 1990 a 2007. Fonte:Embrapa Gado de Geite, 2010.

Dados da Embrapa Gado de Leite (2010), (figura 04) mostram que, em 2007, de todo volume de leite inspecionado pelo Sistema de Inspeção Federal nas indústrias mais importantes do País, 34% foram comercializadas na forma de queijo, seguido pelo leite longa vida com 26%, porém estes percentuais variam de acordo com a época do ano e do preço de cada produto.

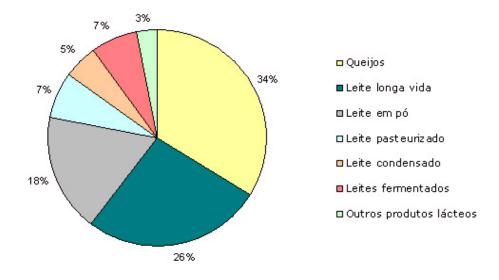


Figura 04: Industrialização do leite (SIF) no Brasil em 2007.

Fonte: Embrapa Gado de Leite, 2010.

Embora no Brasil, se consuma bastante leite em comparação a outros países (tabela 1), o volume ainda esta bem distante do recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que é de 175l/hab./ano. Porém este vem crescendo a cada ano chegando a 83 Kg/hab./ano (aproximadamente 80,7l/hab./ano) em 2008.

Tabela 01: Consumo mundial per capta de leite fluído de 2000 a 2008.

País	Kg / pessoa / ano								
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008*
AMÉRICA DO N	IORTE								
Canadá	93,1	92,1	90,4	87,2	86,9	86,4	93,9	93,9	92,6
Estados	95,2	94,2	93,9	94,3	93,8	93,2	92,0	95,6	97,6
Unidos									
México	39,2	40,2	39,8	42,0	41,4	42,1	40,9	42,1	42,1
AMÉRICA DO S	UL								
Argentina	61,3	62,0	51,9	52,9	46,0	48,1	48,6	51,1	53,7
Brasil	72,3	69,7	68,3	68,1	69,2	70,8	72,7	77,0	83,2
UNIÃO EUROPI	ÉIA**								
UNIÃO	80,0	80,2	75,8	76,0	75,2	73,7	69,3	69,1	69,1
EUROPÉIA**									
EUROPA ORIEN	NTAL								
Romênia	153,0	156,0	154,4	163,6	171,8	165,7	171,2	n.d.	n.d.
EX – URSS									
Rússia	96,5	96,8	98,8	92,3	89,6	86,8	83,8	83,8	85,2
Ucrânia	63,3	66,0	68,7	72,4	108,0	91,9	105,9	109,0	109,5
ÁFRICA									
Egito	18,2	21,5	21,1	21,8	21,5	21,2	20,8	n.d.	n.d.
ÁSIA									
China	3,0	3,5	4,4	5,9	7,9	9,9	10,4	11,2	12,0
Coréia do Sul	n.d.	n.d.	34,7	37,9	33,1	32,1	31,8	n.d.	n.d.
Índia	32,9	32,7	32,4	32,4	33,3	35,6	34,7	35,7	37,1
Japão	39,2	38,9	39,4	39,6	38,9	37,7	37,3	n.d.	n.d.
Taiwan	15,3	15,5	14,7	15,3	14,5	14,4	14,1	n.d.	n.d.
OCEANIA									
Austrália	103,9	99,2	100,6	100,4	101,4	103,7	103,6	105,3	108,5
Nova Zelândia	90,6	91,9	90,8	91,1	90,1	89,2	87,0	87,0	

Fonte: Embrapa Gado de Leite, 2010.

#### 2.3. Sintese do leite de vaca e sua composição

O leite é sintetizado a partir de nutrientes fornecidos para as células secretoras da glândula mamária pelo sangue. Estes nutrientes são provenientes diretamente da dieta ou após sofrerem modificações nos tecidos dos animais antes de alcançar a glândula mamária. Para produzir 1 litro de leite é necessário circular pelo úbere 500 litros de sangue. A glândula mamária é densamente irrigada com vasos sangüíneos, artérias e veias. Sendo a função

primária deste sistema arterial fornecer de maneira contínua nutrientes para as células sintetizar o leite. (Gurtler, Ketz e Schroder, 1984).

A tabela 2 mostra a composição nutricional média dos principias componentes encontrados no leite de vaca.

Tabela 02: Composição nutricional média do leite de vaca

Composição	Percentual
Água	87,0
Lactose	4,90
proteína	3,50
Alfa-lactoalbumina	0,52
Beta-lactoglobulina	0,20
Lipídios neutros	3,70
Fosfolipídios	0,10
Cálcio	0,12
Fósforo	0,10
Sódio	0,05
Potássio	0,15
Cloro	0,11
Ácido cítrico	0,20

Fonte: Maynard et al., (1984).

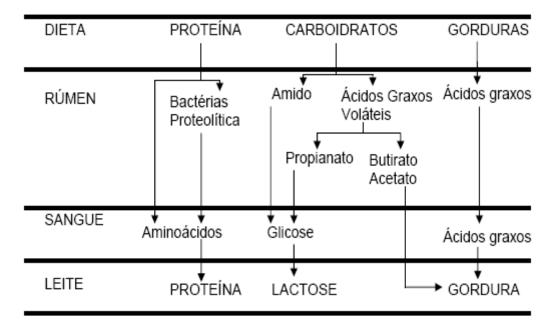
A glândula mamária das vacas de leite consiste de quatro glândulas separadas sendo cada qual com uma teta. O leite que é sintetizado em urna glândula não passa para qualquer das outras glândulas. O lado direito e esquerdo do úbere estão separados pelo ligamento mediano, enquanto que a separação entre a parte posterior e anterior é menos definida. (Schmidt, 1974; Gurtler, Ketz e Schroder, 1984; Cunningham, 1999)

Esta glândula é composta de tecido conectivo e tecido secretor. A quantidade de tecido secretor ou o número de células secretoras é o fator limitante da capacidade produtiva do úbere. O leite é sintetizado pelas células secretoras, dispostas em camadas na membrana basal que possui uma estrutura esférica, chamada alvéolo. O diâmetro de cada alvéolo é em tomo de

50 a 250 μm. Vários alvéolos juntos formam um lobo. A estrutura desta área é muito similar a estrutura de um pulmão. O leite é produzido de maneira contínua nesta área alveolar e armazenado nos alvéolos, nos dutos condutores de leite, na cisterna do úbere e na cisterna da teta entre as ordenhas. No entanto, as capacidades das cisternas são, relativamente, as grandes diferenças entre as vacas de leite. E estas capacidades são importantes para a rotina de ordenha ser aplicada.

A teta consiste de cisterna e canal. Onde a cisterna da teta e o canal se encontram, há de 6 a 10 dobras longitudinais que formam a chamada rosácea de Fürstenbergs, que envolve o local defendendo-o contra a mastite. O canal da teta é circundado por uma malha de fibras musculares lisas longitudinais e circulares. Entre as ordenhas os músculos lisos funcionam para manter o canal da teta fechado. O canal da teta é também provido com queratina que mantém entre as ordenhas uma barreira contra as bactérias patogênicas.

Um esquema geral dos passos envolvidos na conversão dos componentes da dieta em componentes do leite é mostrado no esquema 1.



Esquema 01: Conversão dos componentes da dieta a componentes do leite

Fonte: Adaptado de Shimidt, (1974).

Pelo esquema 01 verificamos que a fermentação dos carboidratos da dieta no rúmen resulta na formação de ácidos graxos voláteis, especialmente acetato, propianato e butirato. Apenas pequena quantidade de glicose é capaz de passar pelo rúmen e ser absorvida no intestino dos ruminantes. Aproximadamente 45 a 60% da glicose é sintetizada a partir do propianato e de aminoácidos glicolíticos, como a alanina, aspartato e asparagina, pela gliconeogênese (Schimidt, 1974).

Já a síntese de triglicerídeos da gordura do leite ocorre nas células epiteliais mamárias. Sendo que os precursores utilizados para esta síntese são glicose, acetato, β-hidroxibutirato e triglicerídeos. Os ácidos graxos usados para sintetizar os triglicerídeos provem de duas fontes: lipídios do sangue e síntese de novo dentro das células epiteliais mamárias (Seçkin *et al.*, 2005).

A síntese de novo é feita a partir de acetato e do β-hidroxibutirato, sendo que este último contribui com cerca de 15% do carbono fixado como gordura. As enzimas chave desta rota metabólica são duas: acetil-CoA-carboxilase (ACC), e a sintetase de ácidos graxos (FAS)-. A primeira é responsável por transformar acetato em malonil-CoA, e a FAS, por sua vez, catalisa os ciclos de condensação do malonil-CoA com acetil-CoA, ou butiril-CoA, originados do metabolismo do acetato ou do β-hidroxibutirato. Todo conteúdo de ácidos graxos com menos de dez carbonos é resultado da síntese de novo, e esta também é a origem de metade do ácidos graxos de doze e dezesseis carbonos. A outra metade destes, e os ácidos graxos com mais de dezoito carbonos , tem origem exógena, oriundos da mobilização das reservas corporais ou de ácidos graxos absorvidos da dieta (Domeyer & Doreau, 1999).

Outros componentes presentes no leite são os minerais primários Ca<sup>2+</sup>, P, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup> e Mg<sup>2+</sup>. Assim como as concentrações de lactose, as de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> são normalmente constantes no leite, independente de fatores externos, sendo que estes componentes, juntamente com o cloreto, mantêm o equilíbrio osmótico do leite.

Finalmente, as vitaminas não podem ser sintetizadas pela glândula mamária. Elas são sintetizadas pelas bactérias do rúmen, convertidas de precursores no fígado, no intestino delgado e na pele ou derivadas diretamente das fontes alimentares.

#### 2.4. Ácido Linoléico Conjugado

Apesar de referido como uma molécula, o ácido linoléico conjugado (CLA) é um grupo de isômeros de posição e geométricos do ácido linoléico, com duplas ligações conjugadas(separadas apenas por uma ligação simples carbono-carbono). Há cerca de cinqüenta e seis possíveis isômeros geométricos e de posição do CLA (Seçkin *et al.*, 2005; Sieber *et al.*, 2004; Fuente, Luna e Juarez, 2006).

Destes isômeros, dois tem ganhado destaque mundial nas pesquisas com alimentos (figura 05): O isômero 18:2t10c12 tem sido apontado como um potente inibidor da síntese de gordura no leite e também responsável pela redistribuição da gordura do músculo, sendo capaz de diminuir a massa gorda e aumentar a massa magra, reciprocamente (Fuente, Luna e Juarez, 2006; Mourão *et al., 2005;* Roach *et al., 2002*). O isômero 18:2c9t11 tem propriedades antitumorais comprovadas, como agente redutor da incidência do câncer de mama (Parodi, 1994; Sieber *et al., 2004*; Ou *et al., 2007*).

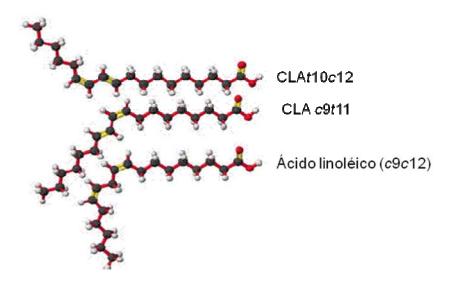
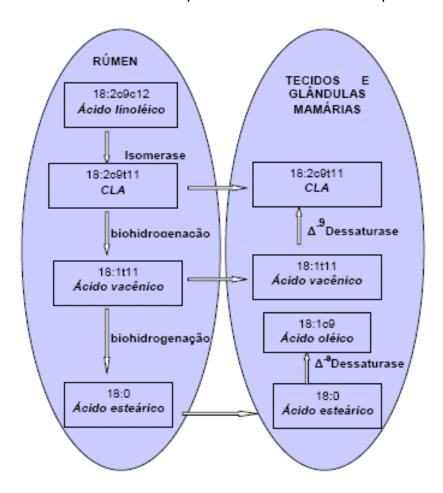


Figura 05: Estrutura do ácido linoléico e dos dois isômeros de CLA com atividade biológica, *c*9*t*11 e *t*10*c*12.

Em países como a Alemanha, estudos avaliando os hábitos de consumo da população, indicam que, para surtir efeitos anticarcinogênicos, a ingestão diária de CLA deve ser de 360 mg para mulheres e 440 mg para homens,

sendo destes, 2/3 provenientes de leite e produtos lácteos e 1/4 provenientes de carne e produtos cárneos.

Os CLA's podem ser produzidos sinteticamente por hidrogenação parcial do ácido linoléico, e no organismo dos animais, sendo que no organismo ele pode ser formado de duas maneiras: a) Pela biohidrogenação incompleta dos ácidos graxos da dieta; b) Endogenamente, através da dessaturação do ácido graxo vacênico (18:1t11) por uma enzima presente na glândula mamária e tecido adiposo, enzima esta denominada de esteroil-CoA dessaturase ou Δ<sup>-9</sup>-dessaturase. No entanto, como o 18:1t11 é produzido principalmente através da biohidrogenação ruminal, este processo é o grande responsável pela produção das maiores fontes de CLA nos produtos derivados de ruminantes (Buccione *et al.*, 2006, Martin *et al.*, 2007). O processo de formação do CLA em ruminantes pode ser visualizado no esquema 02.



Esquema 02: Produção de CLA em ruminantes. O quadro da esquerda se refere aos processos que ocorrem no rúmen; o quadro da direita, aos ocorridos na glândula mamária ou tecido adiposo. Adaptado de Bauman (2001)

Apesar da grande polêmica atual envolvendo alimentos que contém gorduras do tipo trans, a gordura trans formada por ruminantes tem uma composição diferente de ácidos graxos do que a gordura trans formada a partir da hidrogenação de óleos. A gordura trans formada pelos ruminantes atua de forma diferente em termos de efeitos na saúde humana. Dados do Nurse's Health Study revelaram que a gordura trans derivada de gordura vegetal aumenta o risco de doenças cardíacas coronárias, enquanto que a gordura trans de origem animal é capaz de diminuí-lo (Talpur, Bhanger e Khuhawar, 2006).

Alguns estudos com humanos (Sieber *et al.*, 2004), de suplementação de CLA com cápsulas (produto sintético) têm rendido melhores resultados comparados aos estudos em que foi obtido CLA a partir unicamente da dieta. Isso porque, geralmente, as cápsulas são compostas por misturas equimolares dos isômeros 18:2c9t11 e 18:2t10c12, enquanto que o CLA proveniente da dieta possui predominantemente o isômero 18:2c9t11 e baixíssimos níveis de 18:2t10c12. Obviamente, os isômeros de CLAs e suas interações necessitam ser ainda mais estudados, e essas observações com ácidos graxos no que diz respeito à seus possíveis efeitos sobre a saúde devem ser encorajadores. Além disso, a utilização dos isômeros de CLA em uma variedade de alimentos funcionais é uma possibilidade que não deve ser ignorada.

Uma forma de analisar ácidos graxos em alimentos é utilizar a cromatografia a gás (CG). Para tal, faz-se necessária a conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos de ácidos graxos. Esse processo permite que os ácidos graxos tornem-se menos polares e mais voláteis.

## 2.5. Análise por cromatografia a gás dos ésteres metílicos de ácidos graxos

Em cromatografia gasosa, as primeiras análises de ésteres metílicos de ácidos graxos foram realizadas usando colunas empacotadas com 1 a 3 metros e diâmetro de 2-4 mm, sendo característico haver perdas de componentes com o aumento do número de carbono e insaturação (Tvrzická *et al.*, 2002). Essas colunas foram sendo substituídas por colunas capilares por serem mais

eficientes e promover resultados mais precisos devido a melhor resolução (Freedman *et al.*, 1986).

Contudo, hoje são utilizadas colunas capilares de 50 a 100 m de comprimento para que o número de pratos teóricos seja suficiente para promover resolução cromatográfica adequada para separar misturas complexas de ésteres metílicos de ácidos graxos, permitindo a aplicação da técnica analítica em análises de rotina em laboratórios de cromatografia (Ackman, 1972, Seppanen-Laakso et al., 2002).

A separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos pode ser realizada em três diferentes tipos de coluna, com fase estacionária apolar, polar e muito polar (Christie, 1989), sendo mais utilizada as colunas de alta polaridade (quimicamente ligadas) devido a maior resistência mecânica da fase estacionária e maior estabilidade térmica, resultando no aumento do tempo de vida útil da coluna (Peene *et al.*, 2003).

O detector de ionização de chama é o mais conveniente e usado para detecção de compostos orgânicos, em especial para análise de alimentos devido à quantidade mínima detectável (10 g), resposta quase universal, faixa de linearidade e resposta rápida (Craske e Bannon, 1987). Apesar de responder a propriedades do soluto, este é sensível ao fluxo de massa que passa por ele.

No entanto, a resposta do detector de ionização de chama é diferencial, ou seja, a magnitude do sinal é proporcional ao número de carbono ativo, logo ésteres metílicos com diferentes cadeias carbônicas apresentarão diferentes respostas no detector de ionização de chama (Ulberth e Schrammel, 1995; Brondz, 2002; Schreiner e Hulan, 2004; Collins *et al.*, 2006; Visentainer e Franco, 2006).

Na análise de alimentos, a cromatografia gasosa permite a identificação dos componentes da amostra através da comparação dos tempos de retenção dos compostos com aqueles obtidos através da injeção de padrões contendo as substâncias a serem analisadas. No entanto, este procedimento não é conclusivo, pois componentes diferentes podem ter o mesmo tempo de retenção. Alternativas usadas na identificação são: adição de padrão (*spiking*), utilização de padrão secundário, métodos gráficos, uso de colunas com

diferentes polaridades e índices sistemáticos de retenção e espectrômetro de massas. O índice de retenção de Kovats é um método que se baseia no comprimento equivalente da cadeia (ECL, *Equivalent Chain Length*) e é muito aplicado por ser um método simples, de fácil aplicação e de baixo custo (Visentainer e Franco, 2006).

Na análise por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, o método da normalização é muito utilizado, porém, apresenta limitações como: a necessidade de eluição e detecção de todos os componentes injetados, o que nem sempre ocorre devido à discriminação ou retenção irreversível de algum componente e a consideração de que a resposta do detector é a mesma para todos os componentes; o que não acontece, pois o detector de ionização de chama apresenta resposta diferencial (Albertyn *et al.*, 1982).

O uso de adição de um padrão interno tem sido empregado na análise de ácidos graxos, pois possibilita expressar os resultados em massa. Este método é menos sensível a erros, uma vez que o padrão interno e a amostra são injetados juntos e, através da utilização de fatores de correção é possível expressar os resultados em massa de ácidos graxos e não de ésteres metílicos de ácidos graxos (Ackman e Sipos, 1964; Schreiner, 2005; Visentainer e Franco, 2006).

O padrão interno a ser empregado na quantificação dos ácidos graxos deve apresentar alguns requisitos básicos como: não estar presente na amostra, ter alto grau de pureza, estabilidade, ser acessível, de baixo custo, eluir separadamente e próximo dos componentes da amostra entre outros (Eder, 1995; Brondz, 2002).

#### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

 Determinar a composição química e quantificar os ácidos graxos presentes em amostras de leite cru, pasteurizado, e iogurte por cromatografia gasosa, com detecção por ionização em chama, com ênfase para a análise do ácido linoléico conjugado.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Verificar a composição química em termos de umidade, cinzas,
   proteínas e lipídios de amostras de leite cru, pasteurizado e iogurte.
- Quantificar os ácidos graxos presentes nas amostras acima citadas;
- Comparar os ácidos graxos presentes nos leites crus, com os mesmos após ter passado pelo processo de pasteurização, e fermentação para produção de iogurte visando estabelecer se o processo de pasteurização e fermentação interferem no teor de ácidos graxos em especial a do ácido linoléico conjugado.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1. Amostragem

#### 4.1.1. Leite cru

A coleta das amostras foi realizada em laticínio do noroeste do Paraná. O mesmo recebe diariamente uma carreta de leite cru refrigerado tipo c contendo 26.000L, a matéria prima é oriunda sempre da cidade de Lobato-PR, onde os animais são na grande maioria da raça Gir (Bos indicus), e são alimentados no sistema de pastagem com estrela africana (Cynodon nlenfuensis var. nlenfuensis) Desta carreta são coletadas três amostras (uma de cada tanque) para realização das análises de pH, acidez, crioscopia, densidade, fervura, reconstituintes, células somáticas, antibiótico e teor de gordura feitas no laboratório de físico-química da unidade. Após estas análises, tendo os resultados cumprido os requisitos técnicos de qualidade, o leite é liberado para ser descarregado. È então conectada a tubulação de saída dos tanques da carreta uma tubulação de inox que com auxílio de bomba positiva, bombeia o leite por sistema fechado até o tanque isotérmico vertical de estocagem com capacidade de 30.000l, munido de agitador.

Deste tanque foram coletadas cinco amostras de 250 mL cada, em frascos previamente esterilizados. Foram coletadas amostras em quatro semanas consecutivas do mês de janeiro de 2009 (verão). Após recolhimento, os frascos foram imediatamente resfriados e congelados, sendo transportados em recipientes térmicos.

#### 4.1.2. Leite pasteurizado

Do tanque isotérmico vertical que estava estocado inicialmente, o leite cru segue bombeado por sistema fechado em tubulação de inox até o pasteurizador a placas do tipo HTST (alta temperatura, curto tempo), munido de controlador de temperatura digital, onde é aquecido á 75°C/15s e resfriado imediatamente a 5°C sofrendo assim o processo de pasteurização, seguindo

para outro balão de estocagem horizontal com capacidade de 30.000l, isotérmico e munido com agitador.

Deste tanque são coletadas cinco amostras de 250 mL cada, em frascos previamente esterilizados. Após recolhimento, os frascos foram imediatamente resfriados e congelados, sendo transportados em recipientes térmicos.

#### **4.1.3. logurte**

Do balão horizontal de estocagem de leite pasteurizado, o mesmo segue por sistema fechado de tubulação de inox até tanque de preparo, onde é adicionado sob agitação constante o açúcar e mistura de estabilizantes segundo formulação da unidade. Deste tanque a mistura é novamente pasteurizada (85°C/10min) e destinada as fermenteiras onde chega a temperatura de 42°C. É adicionada então, a mistura iniciadora liofilizada YO MIX da Danisco, e mantido o tanque hermeticamente fechado e mistura sob repouso até que a mesma atinja o pH de 4,7, onde é então resfriada sob leve agitação até temperatura de 20°C. A esta mistura é adicionado o preparado de frutas do sabor desejado, e envasada em máquina do tipo Brascop.

Após o envase foram coletadas cinco amostras de 500 mL cada, em frascos previamente esterilizados. Após recolhimento, os frascos foram imediatamente resfriados e congelados, sendo transportados em recipientes térmicos.

#### 4.2. Métodos

#### 4.2.1. Análise Química

Conforme métodos da AOAC (Cunniff, 1998), a umidade foi determinada aquecendo-se a amostra em estufa (105°C), e o teor de cinzas por incineração da mesma em mufla (600°C). O nitrogênio total foi analisado segundo método Kjeldahl, e utilizado o fator 6,38 para conversão do percentual de nitrogênio em percentual protéico.

A determinação de lipídios totais foi realizada de acordo com o método de Folch, Lees e Stanley, (1957) com clorofórmio, metanol e água (2:1: 1).

#### 4.2.2 Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos

Os lipídios foram submetidos à preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos, conforme procedimento descrito por Bannon *et al.*, (1982) com modificações.

Foram adicionados 5,0 mL de solução de Metóxido de sódio 0,25 mol L<sup>-1</sup> em metanol –éter etílico (1:1), em um tubo de tampa rosqueável contendo aproximadamente 150 mg de lipídios, agitando vigorosamente por aproximadamente 3 minutos. À mistura, foram adicionados 3,0 mL de isocotano e 15 mL de solução saturada de cloreto de sódio. O tubo foi novamente agitado vigorosamente e deixado em repouso para separação das fases, e o sobrenadante foi coletado em frascos "ependorf" identificados, para posterior análise cromatográfica.

O método original propõe um rápido aquecimento sob refluxo após adição do reagente transesterificante, mas este não foi realizado para evitar isomerizações dos dienos conjugados do ácido linoléico conforme proposto por Simionato et al., (2010).

#### 4.2.3. Identificação e Quantificação dos ésteres de ácidos graxos

#### 4.2.3.a. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos

A análise cromatográfica foi conduzida utilizando um cromatógrafo a gás Varian, modelo CP 3380, equipado com detector de ionização de chama, injetor do tipo split/splitless e coluna capilar de sílica fundida CP-Select CB-FAME (100 % cianopropil ligado, dimensões: 100 m, 0,25 mm i.d. e 0,39 μm de fase estacionária). Os parâmetros de operação estabelecidos após verificação da melhor condição de resolução foram: temperaturas do injetor e do detector de 235°C. A temperatura da coluna foi programada a 65°C por 4 minutos, seguido por uma primeira rampa de 16°C/min até atingir 185°C, permanecendo assim por 12 minutos. Uma segunda rampa foi programada, de 20°C/min até 235°C, permanecendo nesta temperatura por 14 minutos. O tempo total da análise foi de 40 minutos

As vazões dos gases (White Martins), foram de 1,4 mL.min<sup>-1</sup> para o gás de arraste ( $H_2$ ); 30 mL.min<sup>-1</sup> para o gás auxiliar ( $N_2$ ) e 30 e 300 mL.min<sup>-1</sup> para o  $H_2$  e para o ar sintético da chama, respectivamente. A razão de divisão da amostra (*split*) foi de 1/80.

As injeções foram realizadas em triplicatas e os volumes de injeção foram de 2 µL. As áreas dos picos dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinadas através do software Workstation versão 5.0 (Varian).

# 4.2.3.b. Identificação dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos

A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada de acordo com os seguintes procedimentos:

- por comparação do tempo de retenção dos constituintes da amostra com uma mistura constituída de 37 padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (189-19 Sigma, EUA). e por comparação com tempos de retenção com o de ésteres metílicos de padrões contendo os isômeros geométricos c9t11 e t10c12 do ácido linoléico (O-5626, Sigma, EUA)

#### 4.2.3.c. Avaliação da Resposta do Detector de Ionização de Chama

Para avaliar a resposta do detector de ionização de chama foi utilizada uma solução de mistura de padrões (Sigma) de EMAG em concentração conhecida. O fator resposta experimental foi calculado para os padrões: miristato (14:0), palmitato (C16:0), estearato (C18:0), oleato (C18:1n-9), linoleato (C18:2n-6),  $\alpha$  e  $\delta$  - linolenato (C18:3n-3 e C18:3n-6, respectivamente), eicosanoato (20:0), docosanoato (22:0), tetracosanoato (24:0), em relação ao tricosanoato de metila (C23:0) através da Eq.01, conforme método proposto por Ackman (1972). Estes fatores foram obtidos a partir da média de seis repetições,

$$F_{R} = \frac{A_{23:0} \cdot C_{x}}{A_{x} \cdot C_{23:0}}$$

(Eq. 01)

Onde: F<sub>p</sub> = fator resposta em relação ao tricosanoato de metila

A<sub>23:0</sub> = área do tricosanoato de metila

A = área do EMAG

C<sub>23:0</sub> = concentração do tricosanoato de metila

C = concentração do EMAG

## 4.2.4. Análise quantitativa dos ésteres metílicos de ácidos graxos

A quantificação dos EMAG nas amostras foi efetuada em relação ao padrão interno, tricosanoato de metila (23:0). A solução do padrão interno foi preparada na concentração de 1,0 mg/mL em iso-octano. A adição do padrão interno (tricosanoato de metila) foi realizada antes da pesagem da amostra no recipiente de esterificação. A quantidade adicionada foi estabelecida mantendo uma proporção de aproximadamente 200:1 entre a massa de amostra e massa do padrão interno. Após a adição da solução do padrão interno, o solvente foi evaporado sob fluxo de nitrogênio.

A concentração dos EMAG obtidos após a aplicação do método de esterificação foi calculada de acordo com a Eq. 2 e de maneira similar a Visentainer e Franco. (2006). Os resultados foram expressos em mg de EMAG por grama lipídios totais:

C (mg de EMAG/g) = 
$$\frac{A_x \cdot M_{23:0} \cdot F_{R_T}}{A_{23:0} \cdot M_A \ F_{CT}}$$
 (Eq. 02)

Onde:

AX = área dos EMAG

A23:0 = área do padrão interno;

M23:0 = massa do padrão interno adicionado a amostra (em miligramas);

MA = massa da amostra (em gramas);

FRT = fator de resposta teórico dos EMAG;

FCT = fator de conversão para expressar os resultados em mg de ácidos graxos/g de lipídios totais (LT).

## 4.2.5. Limites de Quantificação e Detecção

Os limites de detecção e quantificação foram estimados conforme recomendação da ACS (1980), considerando a razão sinal ruído igual a três e dez respectivamente, a partir de diluições sucessivas de uma solução padrão de araquidato de metila.

#### 4.2.6. Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) com nível de 5% de significância utilizando o programa Statistica 7.0 (StatSoft, USA, 2005). Os valores médios foram comparados pelo Teste de Tukey.

# **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

# 5.1 Composição química do leite cru, pasteurizado e de iogurte

A composição química dos leites crus, bem como dos leites após o processo de pasteurização e fabricação de iogurtes, são mostradas na tabela 03.

Tabela 03: Composição química dos leites crus, pasteurizados e iogurte coletados no mês de janeiro de 2009.

AMOSTRAS	% Umidade	% Cinzas	%Proteína	% Lipídios
LC1	88,32° ±0,07	0,59 <sup>a</sup> ±0,05	3,70° ±0,12	3,75° ±0,21
LC2	88,47° ±0,03	0,61° ±0,01	3,48 <sup>b</sup> ±0,18	3,68 <sup>a, b</sup> ±0,10
LC3	88,29° ±0,01	$0,63^a \pm 0,03$	3,63 <sup>a, c</sup> ±0,16	3,57° ±0,17
LC4	88,72° ±0,08	0,57° ±0,06	3,51 <sup>b, c</sup> ±0,06	3,62 <sup>b, c</sup> ±0,24
LP1	88,62° ±0,03	0,51 <sup>b</sup> ±0,06	3,28 <sup>d</sup> ±0,09	3,01 <sup>d</sup> ±0,28
LP2	88,49° ±0,03	0,48 <sup>b</sup> ±0,08	3,31 <sup>d</sup> ±0,05	3,05 <sup>d</sup> ±0,17
LP3	88,33° ±0,06	0,47 <sup>b</sup> ±0,12	3,29 <sup>d</sup> ±0,17	3,08 <sup>d</sup> ±0,21
LP4	88,41 <sup>a</sup> ±0,04	0,53 <sup>b</sup> ±0,09	3,33 <sup>d</sup> ±0,18	3,03 <sup>d</sup> ±0,09
I1	81,36 <sup>b</sup> ±0,09	0,39 <sup>c</sup> ±0,05	2,18 <sup>e</sup> ±0,06	2,45 <sup>e</sup> ±0,16
12	81,47 <sup>b</sup> ±0,05	$0,36^{c} \pm 0,06$	2,17 <sup>e</sup> ±0,09	2,41 <sup>e</sup> ±0,13
13	81,35 <sup>b</sup> ±0,07	0,37 <sup>c</sup> ±0,03	2,20 <sup>e</sup> ±0,05	2,39 <sup>e</sup> ±0,21
14	81,39 <sup>b</sup> ±0,06	0,35° ±0,05	2,16 <sup>e</sup> ±0,07	2,38 <sup>e</sup> ±0,18

Resultados expressos em percentagem como média±desvio padrão dos resultados das análises em triplicata de quatro diferentes lotes (n=15). LC=Leite cru tipo C; LP=leite pasteurizado integral; I=logurte. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna são significamente diferentes entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade para razões

Como pode se observar na tabela 03 houve diferenças significativas, em relação á composição química, para os leites crus, após sofrer processo de pasteurização e após fabricação de iogurte. Porém ambos os leites estão dentro dos resultados exigidos pela Instrução normativa nº51 do Ministério da Agricultura (Brasil 2002), onde o mínimo de gordura é de 3% e o teor de proteína total 2,9%. No entanto a diferença em relação ao teor de cinzas existentes entre os dois se deve ao processo de pasteurização do leite, pois o

fosfato de cálcio, (constituinte dos sais do leite) é muito dependente da temperatura para ficar no estado solúvel, quando o leite sofre processo de pasteurização, parte do cálcio presente fica na forma insolúvel, e adere as placas do pasteurizador, fazendo com que o teor de sais diminua após este processo. Desta forma toda vez que se usa leite pasteurizado para fazer queijos, há a necessidade de repor o cálcio na forma de solução de cloreto de cálcio. Em relação à diferença existente entre o teor de proteína dos leites, a insolubilidade de parte do fosfato de cálcio, faz com que haja desestabilização do complexo protéico no leite e com isto há precipitação de algumas proteínas, onde as mesmas ficam retidas nas placas do pasteurizador, diminuindo seu teor no leite após o processo de pasteurização. Já para os lipídios, a diferença após o processo de pasteurização se deve ao leite passar por padronizadora, para retirada de possíveis sujidades, esta padronizadora está a alta rotação e como o leite ficou estocado a baixa temperatura, acaba criando uma película de gordura em sua superfície, que é retida no aparelho, fazendo com que o teor de lipídios diminua após este processo.

O iogurte teve resultados significativamente diferentes quanto a composição química, quando comparado aos leites crus e após pasteurização. O valor menor de umidade do mesmo se deve, a adição de amido e gelatina no produto como estabilizante para evitar a sinerese no produto final, durante o tempo de prateleira. Pela instrução normativa nº16 do Ministério da Agricultura (Brasil 2003), pode-se adicionar até 1% de amidos modificados ao produto final. Ao iogurte também é comum adicionar açúcar para melhorar a palatabilidade do produto, num total máximo de 12%. Isto faz com que se aumente a quantidade de carboidratos no produto final. Como os estabilizantes ajudam aumentar a viscosidade do produto, se diminui a quantidade de leite na formulação fazendo com isto, com que se reduza a quantidade de lipídios totais e teores de proteínas comparados aos leites crus e pasteurizados.

# 5.2. Quantificação dos Ésteres metílicos de ácidos graxos

A Tabela 04 apresenta os valores dos fatores resposta experimental obtido a partir de uma mistura de padrões de EMAG e teórico em relação ao tricosanoato de metila. Os fatores experimentais para os EMAG saturados

apresentaram maior proximidade com os fatores teóricos, quando comparado com os valores obtidos para os EMAG: linoleato de metila,  $\alpha$  e  $\delta$  - linolenato de metila.

Essa diferença pode ter ocorrido devido à instabilidade oxidativa dos EMAG polinsaturados, desta forma utiliza-se EMAG saturados para verificar a otimização do equipamento e uma vez otimizado, recomenda-se a utilização dos fatores teóricos nas determinações quantitativas de ácidos graxos polinsaturados (Bannon *et al.,* 1986). Deste modo, para a quantificação dos EMAG foram utilizados os fatores de resposta teóricos.

Tabela 04: Valores de fator resposta em relação ao tricosanoato de metila

	FATOR RESPOSTA				
EMAG	*EXPERIMENTAL	TEÓRICO	FATOR DE ERRO (F <sub>E</sub> )		
14:0	1,10±0,13	1,080	1,02		
16:0	1,08±0,10	1,055	1,02		
18:0	1,09±0,07	1,035	1,05		
18:1n-9	1,04±0,07	1,028	1,01		
18:2n-6	1,13±0,08	1,021	1,10		
18:3n-6	1,25±0,10	1,014	1,14		
20:0	1,06±0,03	1,019	1,04		
18:3n-3	1,26±0,09	1,014	1,25		
22:0	0,979±0,02	1,006	0,97		
24:0	0,957±0,02	0,9951	0,96		

<sup>\*</sup> Os valores são médias de seis repetições acompanhados de seu desvio padrão

Os limites de detecção e quantificação foram estimados a partir de sucessivas diluições de uma solução padrão de araquidato de metila e apresentaram os valores de 0,15 e 0,48 mg/g de lipídio, respectivamente.

Após ter verificado a concordância entre os fatores de respostas experimentais e teórico na faixa de concentração utilizada para a quantificação dos EMAG a partir de sucessivas diluições de soluções de padrões dos EMAG C18:169, C18:2n-6, C18:3n-3, C20:0 em relação ao tricosanoato de metila, procedeu-se a aplicação dos procedimentos de esterificação após a adição do padrão interno.

Essa verificação possibilitou estabelecer uma razão de aproximadamente 200:1 entre massa de amostra e de padrão interno, sem comprometer os resultados da quantificação dos EMAG e evitando o consumo excessivo de padrão interno, que é um reagente caro e pode aumentar o custo final da análise cromatográfica.

#### 5.3 Composição dos EMAG de lipídios em amostras de leite cru.

.Foram identificados e quantificados 26 ácidos graxos presentes na gordura dos leites analisados. O cromatograma para o leite cru tipo C pode ser visualizado abaixo na figura (6).

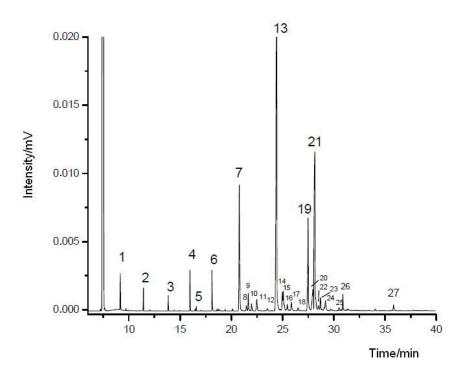


Figura (6) . (1) 4:0, (2) 6:0, (3) 8:0; (4) 10:0, (5) 11:0, (6) 12:0, (7) 14:0, (8) 14:1n-11, (9) 14:1n-9, (10) 14:1n-7, (11) 15:0, (12) 15:1n-7, (13) 16:0, (14) 16:1n-11, (15) 16:1n-9, (16) 16:1n-7, (17) 17:0, (18) 17:1n-7, (19) 18:0, (20) 18:1t, (21) 18:1n-9, (22) 18:1n-7, (23) 18:2n-6t, (24) 18:2n-6, (25) 18:3n-3, (26) 18:2c9t11, (27) 23:0 (padrão interno)

Analisando os resultados para os ácidos graxos (tabela 05), podemos verificar que em todas as semanas de coleta, obteve-se como ácidos graxos

majoritários, os ácidos Mirístico (14:0), Palmítico (16:0), Esteárico (18:0) e oléico (18:1n-9)

Tabela 05 – Teor de ácidos graxos em mg/g de lipídios totais para o leites cru coletados em diferentes semanas do mês de janeiro de 2009.

AMOSTRAS	LC1	LC2	LC3	LC4	
ÁCIDO GRAXO			103		
4:0	31,80° ± 0,37	33,62 <sup>b</sup> ± 0,03	30,61°±0,25	31,75°±0,18	
6:0	$9,90^{a} \pm 0,26$	9,13 <sup>b</sup> ±0,01	9,88°±0,23	9,78°±0,08	
8:0	$7,66^{a} \pm 0,04$	7,63°±0,08	7,03 <sup>b</sup> ±0,18	7,53°±0,06	
10:0	18,96° ± 0,25	19,48 <sup>b</sup> ±0,07	18,89°±0,07	19,05°±0,05	
11:0	$2,58^{a} \pm 0,23$	2,18 <sup>b</sup> ±0,03	2,61°±0,12	2,68°±0,03	
12:0	22,91 <sup>a, b</sup> ± 0,35	23,10 <sup>a, c</sup> ±0,05	22,78 <sup>b</sup> ±0,05	23,36 <sup>c</sup> ±0,23	
14:0	$98,38^{a} \pm 0,31$	86,27 <sup>b</sup> ±0,12	94,80°±0,08	92,31°±0,17	
14:1n-11	$2,42^a \pm 0,18$	3,10 <sup>b</sup> ±0,06	2,25°±0,07	2,38°±0,14	
14:1n-9	7,54 <sup>a</sup> ± 0,08	10,60 <sup>b</sup> ±0,21	9,51 <sup>b</sup> ±0,03	10,08 <sup>b</sup> ±0,21	
14:1n-7	4,35° ±0,06	5,32 <sup>b</sup> ±0,08	4,61°±0,09	4,51 <sup>a</sup> ±0,02	
15:0	5,51 <sup>a</sup> ±0,03	6,30 <sup>b</sup> ±0,07	5,92°±0,11	5,86°±0,06	
15:1n-7	2,40° ±0,15	2,41°±0,06	2,71 <sup>b</sup> ±0,06	2,85 <sup>b</sup> ±0,04	
16:0	294,25° ±0,12	241,30 <sup>b</sup> ±0,03	271,52°±0,07	289,72 <sup>b</sup> ±0,03	
16:1n-11	1,81 <sup>a</sup> ±0,07	1,72 <sup>b</sup> ±0,06	1,69 <sup>b</sup> ±0,12	1,75 <sup>a, b</sup> ±0,06	
16:1n-9	1,62° ±0,05	1,80 <sup>b, c</sup> ±0,02	1,75°±0,10	1,68 <sup>a, c</sup> ±0,05	
16:1n-7	13,65° ±0,03	10,53 <sup>b</sup> ±0,05	12,10 <sup>a, b, c</sup> ±0,05	13,05 <sup>a, c</sup> ±0,08	
17:0	6,14 <sup>a</sup> ±0,09	5,29 <sup>b</sup> ±0,06	5,59 <sup>b</sup> ±0,06	6,08°±0,07	
17:1n-7	2,25° ±0,07	2,34 <sup>b</sup> ±0,02	2,28 <sup>a, c</sup> ±0,03	2,31 <sup>b, c</sup> ±0,03	
18:0	102,91° ±0,08	96,11 <sup>b</sup> ±0,08	95,62 <sup>b</sup> ±0,05	101,03°±0,12	
18:1t	33,03° ±0,12	25,20 <sup>b</sup> ±0,05	26,67 <sup>b</sup> ±0,06	32,05°±0,18	
18:1n-9	209,74° ±0,21	203,05 <sup>b</sup> ±0,03	208,39 <sup>a</sup> ±0,22	207,08°±0,05	
18:1n-7	2,96° ±0,17	2,57 <sup>b</sup> ±0,07	2,86°±0,05	2,88°±0,03	
18:2n-6t	2,52° ±0,06	2,10 <sup>b</sup> ±0,09	2,28 <sup>b</sup> ±0,08	2,21 <sup>b</sup> ±0,04	
18:2n-6	14,77° ±0,03	15,37 <sup>b</sup> ±0,08	15,05°±0,12	14,93°±0,21	
18:3n-3	4,89 <sup>a</sup> ±0,05	4,60 <sup>b, c</sup> ±0,10	4,56°±0,32	4,78 <sup>a, b</sup> ±0,17	
18:2 c9t11	14,72° ±0,03	15,18 <sup>b</sup> ±0,05	14,81°±0,04	14,91°±0,07	
AGS	601,00°±0,08	530,41 <sup>b</sup> ±0,05	565,25°±0,03	589,15°±0,07	
AGMI	281,77°±0,03	268,64 <sup>b</sup> ±0,02	274,82°±0,08	280,62°±0,05	
AGPI	36,90°±0,05	37,25 <sup>b</sup> ±0,08	36,70°±0,07	36,83°±0,06	
n-6	32,01°±1,22	32,65 <sup>b</sup> ±0,09	32,14°±0,09	32,05°±0,07	
n-3	4,89°±0,22	4,60 <sup>b, c</sup> ±1,35	4,56°±0,05	4,78 <sup>a, b</sup> ±0,04	
AGPI/AGS	0,06°±0,40	0,07°±0,52	0,06°±0,08	0,06°±0,07	
n-6/n-3	6,55°±0,22	7,10 <sup>b</sup> ±0,31	7,05 <sup>b</sup> ±1,25	6,70°±0,06	

Resultados expressos em percentagem como média±desvio padrão dos resultados das análises em triplicata de quatro diferentes lotes (n=15). AGS = Ácidos Graxos Saturados; AGMI =Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI=ácidos graxos poliinsaturados; n-6=ácidos graxos ômega-6; n-3=ácidos graxos ômega-3. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são significamente diferentes entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade para razões e CLA (Ácido Linoléico Conjugado).

Em se tratando do ácido rumênico, como também é chamado o ácido linoléico conjugado (CLA, 18:2c9t11), encontrou-se em todas as semanas de

coleta, uma quantidade considerável do mesmo (aproximadamente 15mg/g). Resultado superior ao encontrado por Simionato (2008) no período de verão (7 a 11mg/g), isto pode ter ocorrido, pois animais alimentados com pastagem tem maior biohidrogenação ruminal do que animais alimentados com ração concentrada segundo Beam et al., (2000).

A razão n-6/n-3 ficou em torno de 7, valor dentro do recomendado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (FAO, 2007) que sugere a razão da ingestão entre Ômega-6 e Ômega-3 entre 5 e 10.

# 5.4 Composição dos EMAG de lipídios nas amostras de leite após processo de pasteurização

Muitos pesquisadores têm estudado como os processos térmicos utilizados para conservação de leite e seus derivados afetam as suas propriedades nutricionais e organolépticas (Pereda *et al.*, 2008, Raynal-Ljutovac *et al.*, 2007, Rynnea *et al.*, 2004.). Além de desnaturações protéicas, o tratamento térmico também pode aumentar o número de reações, como as de Maillard, assim como a degradação de vitaminas.

Essas alterações referem-se principalmente a mudanças nas estruturas das proteínas. Entretanto, não foram encontrados relatos semelhantes que demonstrem como a pasteurização pode afetar a composição e quantidade de ácidos graxos.

Para verificar a influência do processo de pasteurização no perfil de ácidos graxos, pode se observar a quantificação para cada ácido graxo encontrado nos leites após sofrer processo de pasteurizados na tabela (07).

Tabela 07 –Teor de ácidos graxos em mg/g de lipídios totais para o leite após sofrer processo de pasteurização coletado em diferentes semanas do mês de janeiro de 2009.

AMOSTRAS	_ LP1	LP2	LP3	LP4	
ÁCIDO GRAXO		21 2	2. 3		
4:0	30,28°±0,09	31,45 <sup>b, c</sup> ±0,05	32,05 <sup>c</sup> ±0,07	30,95 <sup>a, b</sup> ±0,06	
6:0	9,72°±0,18	9,84 <sup>b</sup> ±0,04	9,21°±0,13	9,62°±0,12	
8:0	7,61°±0,03	7,58°±0,06	7,72°±0,05	7,21 <sup>b</sup> ±0,08	
10:0	18,23°±0,05	17,95°±0,12	16,83 <sup>b</sup> ±0,08	18,03°±0,15	
11:0	3,18 <sup>a</sup> ±0,06	3,07°±0,15	3,22°±0,03	3,08°±0,09	
12:0	20,15°±0,08	21,19 <sup>b</sup> ±0,12	20,95 <sup>b</sup> ±0,07	20,34°±0,05	
14:0	98,06°±0,07	97,06 <sup>b</sup> ±0,11	98,09°±0,05	98,17°±0,06	
14:1n-11	2,31 <sup>a, b</sup> ±0,12	2,45 <sup>a, c</sup> ±0,08	2,15 <sup>b</sup> ±0,21	2,61°±0,18	
14:1n-9	8,15 <sup>a</sup> ±0,18	7,43 <sup>b</sup> ±0,07	8,09°±0,18	8,23°±0,09	
14:1n-7	4,85°±0,16	4,74 <sup>a, b</sup> ±0,04	4,63 <sup>b</sup> ±0,12	4,69 <sup>b</sup> ±0,02	
15:0	5,28°±0,03	5,38°±0,03	5,42°±0,16	5,71 <sup>b</sup> ±0,21	
15:1n-7	2,32°±0,04	2,48°±0,04	2,39°±0,08	2,68 <sup>b</sup> ±0,14	
16:0	290,03°±0,07	285,22 <sup>b</sup> ±0,05	288,75°±0,12	290,30°±0,08	
16:1n-11	1,81 <sup>a</sup> ±0,12	1,79°±0,05	1,85°±0,24	1,63 <sup>b</sup> ±0,03	
16:1n-9	1,63°±0,05	1,68 <sup>b, c</sup> ±0,06	1,67 <sup>a, b</sup> ±0,09	1,72 <sup>c</sup> ±0,04	
16:1n-7	14,28°±0,18	14,31°±0,04	14,39°±0,05	14,60°±0,07	
i17:0	4,31°±0,06	4,98 <sup>b</sup> ±0,03	4,78 <sup>b</sup> ±0,16	4,72 <sup>b</sup> ±0,13	
17:0	6,05°±0,09	6,08°±0,12	6,15 <sup>b</sup> ±0,04	6,13 <sup>b</sup> ±0,08	
17:1n-7	2,27 <sup>a</sup> ±0,25	2,59 <sup>b</sup> ±0,18	2,29 <sup>a</sup> ±0,03	2,21°±0,04	
18:0	103,29 <sup>a, c</sup> ±0,06	105,77 <sup>b</sup> ±0,03	104,65 <sup>b, c</sup> ±0,04	103,62°±0,07	
18:1t	28,31°±0,04	27,37 <sup>b, c</sup> ±0,08	26,91 <sup>b</sup> ±0,07	27,61°±0,05	
18:1n9	219,03°±0,06	214,12 <sup>b</sup> ±0,09	218,03°±0,03	218,62°±0,03	
18:1n-7	2,37 <sup>a</sup> ±0,07	2,85 <sup>b</sup> ±0,12	2,75 <sup>b</sup> ±0,13	2,63 <sup>b</sup> ±,007	
18:2n-6t	2,28°±0,06	2,22 <sup>b</sup> ±0,04	2,17 <sup>b</sup> ±0,08	2,18 <sup>b</sup> ±0,02	
18:2n6	14,11 <sup>a</sup> ±0,13	13,21 <sup>b</sup> ±0,11	14,19°±0,09	14,02°±0,04	
18:3n-3	4,03°±0,12	3,95 <sup>b</sup> ±0,08	4,09°±0,04	4,11 <sup>a</sup> ±0,08	
18:2 c9t11	6,48°±0,05	6,33 <sup>a, c</sup> ±0,03	5,97 <sup>b</sup> ±0,02	6,09°±0,06	
AGS	596,19°±0,12	595,57°±0,14	597,82 <sup>b</sup> ±0,08	597,88 <sup>b</sup> ±0,07	
AGMI	287,33°±0,09	281,81 <sup>b</sup> ±0,07	285,15°±0,07	287,23°±0,06	
AGPI	26,90°±0,07	25,71°±0,09	26,42°±0,05	26,40°±0,03	
n-6	22,87°±0,21	21,76 <sup>b</sup> ±0,18	22,33°±0,09	22,29 <sup>a</sup> ±0,12	
n-3	4,03°±0,15	3,95 <sup>b</sup> ±0,13	4,09°±0,12	4,11°±0,15	
AGPI/AGS	0,05°±0,18	0,04°±0,21	0,04°±0,14	$0.04^{a}\pm0.12$	
n-6/n-3	5,67°±0,07	5,51 <sup>b</sup> ±0,14	5,46 <sup>b</sup> ±0,03	5,42 <sup>b</sup> ±0,02	

Resultados expressos em percentagem como média±desvio padrão dos resultados das análises em triplicata de quatro diferentes lotes (n=15). AGS = Ácidos Graxos Saturados; AGMI =Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI=ácidos graxos poliinsaturados; n-6=ácidos graxos ômega-6; n-3=ácidos graxos ômega-3. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são significamente diferentes entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade para razões e CLA (Ácido Linoléico Conjugado).

Assim como em relatos anteriores (Seçkin *et al.*, 2005), os ácidos graxos saturados (AGS) foram os mais abundantes nos leites pasteurizados. Entre os AGS, os majoritários foram o 16:0, 18:0 e 14:0. O 16:0 foi o AGS predominante em todas as amostras analisadas.

Se compararmos a somatória de AGS dos leites cru e após o mesmo passar pelo processo de pasteurização, verificamos que aparenta ter havido um aumento da quantidade de AGS, porém esta falsa impressão deve-se ao sistema de estocagem do leite cru, que é em tanque vertical. Com isto a agitação do mesmo é falha e pode haver formação de nata em sua superfície. Isto pode ser comprovado, pois para o leite cru a somatória de AGS varia de 534,51mg/g (LC2) até 606,14mg/g (LC1), sendo que após pasteurização quando o leite é destinado em tanques horizontais com mais agitadores, todas as amostras estão com somatória de AGS próximas de 595mg/g. O mesmo acontece com a somatória de AGMI.

Comparando o teor de CLA dos leites cru e após sofrer o processo de pasteurização, verificou-se um decréscimo de 58,39% no teor deste ácido graxo, demonstrando que o aquecimento denigre a estrutura do mesmo. Provavelmente pelo leite ter pH ácido favorece com o aquecimento, o ataque do oxigênio a dupla ligação, formando compostos voláteis como álcoois e cetonas, diminuindo assim a quantidade deste ácido graxo polinsaturado no alimento.

Em se tratando da razão n-6/n-3 com o decréscimo no teor de CLA, diminui-se também a razão, ficando a mesma entre 5,42 e 5,67. Valor dentro do recomendado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (FAO, 2007) que sugere a razão da ingestão entre Ômega-6 e Ômega-3 entre 5 e 10.

# 5.5. Composição dos EMAG de lipídios em iogurte.

Foram identificados e quantificados 26 ácidos graxos presentes na gordura dos iogurtes analisados.

Tabela 08 – Teor de ácidos graxos em mg/g de lipídios totais para o iogurte coletado em diferentes semanas do mês de janeiro de 2009.

AMOSTRAS	l1	12	13	14	
ÁCIDO GRAXO		12	15	1- <b>T</b>	
4:0	15,08°±0,03	14,97°±0,02	15,01°±0,07	15,12°±0,05	
6:0	8,91°±0,25	8,63°±0,18	8,75°±0,21	8,93°±0,22	
8:0	4,41°±0,23	4,12 <sup>b</sup> ±0,04	4,51°±0,19	4,32°±0,04	
10:0	10,77°±0,04	11,01 <sup>b</sup> ±0,03	10,83°±0,05	10,95 <sup>b</sup> ±0,03	
11:0	1,88°±0,03	1,85°±0,07	1,79 <sup>b</sup> ±0,06	1,80 <sup>b</sup> ±0,03	
12:0	13,57°±0,26	13,52°±0,12	13,45°±0,14	13,63 <sup>b</sup> ±0,18	
14:0	58,33°±0,17	56,95 <sup>b</sup> ±0,18	57,90°±0,11	58,29 <sup>b</sup> ±0,11	
14:1n-11	2,32°±0,07	2,30°±0,22	2,29°±0,05	2,40 <sup>b</sup> ±0,07	
14:1n-9	6,74°±0,10	6,81 <sup>b</sup> ±0,23	6,78 <sup>a, b</sup> ±0,12	6,80 <sup>b</sup> ±0,10	
14:1n-7	3,63°±0,15	3,69°±0,15	3,71°±0,17	3,65°±0,12	
15:0	6,24°±0,16	6,05 <sup>b</sup> ±0,06	6,18 <sup>a</sup> ±0,08	6,13°±0,05	
15:1n-7	1,30°±0,02	1,32°±0,08	1,18 <sup>b</sup> ±0,07	1,23 <sup>b</sup> ±0,08	
16:0	157,24°±0,05	159,20 <sup>b</sup> ±0,12	158,20 <sup>b</sup> ±0,06	157,16 <sup>b</sup> ±0,05	
16:1n-11	1,47 <sup>a, c</sup> ±0,32	1,53 <sup>b</sup> ±0,01	1,50 <sup>a, b, c</sup> ±0,05	1,49 <sup>a, c</sup> ±0,04	
16:1n-9	1,30°±0,13	1,28°±0,12	1,26 <sup>a, b</sup> ±0,05	1,23 <sup>b</sup> ±0,05	
16:1n-7	2,72°±0,05	2,69 <sup>a, b</sup> ±0,05	2,65 <sup>b, c</sup> ±0,03	2,63°±0,03	
i17:0	3,04°±0,04	3,15 <sup>b</sup> ±0,07	3,09 <sup>b</sup> ±0,02	3,12 <sup>b</sup> ±0,04	
17:0	4,76°±0,03	5,01 <sup>b</sup> ±0,04	4,92 <sup>b</sup> ±0,02	5,07 <sup>b</sup> ±0,03	
17:1n-7	1,59°±0,05	1,63°±0,02	1,71 <sup>b</sup> ±0,05	1,65°±0,07	
18:0	72,11°±0,07	71,26 <sup>b</sup> ±0,01	72,15°±0,04	72,18°±0,05	
18:1t	18,66°±0,05	17,89 <sup>b</sup> ±0,05	17,81 <sup>b</sup> ±0,03	17,69 <sup>b</sup> ±0,02	
18:1n9	125,22°±0,12	126,35 <sup>b</sup> ±0,11	125,20°±0,01	127,12 <sup>b</sup> ±0,03	
18:1n-7	2,75°±0,06	2,73 <sup>a, c</sup> ±0,07	2,68 <sup>b, c</sup> ±0,06	2,70°±0,05	
18:2n-6t	2,29°±0,02	2,23 <sup>a, c</sup> ±0,05	2,15 <sup>b</sup> ±0,02	2,19 <sup>b, c</sup> ±0,04	
18:2n6	10,47°±0,02	10,51°±0,04	11,09 <sup>b</sup> ±0,04	10,72°±0,02	
18:3n-3	2,15°±0,24	2,19°±0,18	2,17°±0,15	2,12 <sup>b</sup> ±0,12	
18:2 c9t11	5,64°±0,01	5,30 <sup>b, c±</sup> 0,03	5,51 <sup>a, b</sup> ±0,02	5,18 <sup>c</sup> ±0,01	
AGS	356,34°±0,18	355,72°±0,15	356,78°±0,21	356,63°± 0,17	
AGMI	167,70°±0,21	168,22°±0,18	166,77 <sup>b</sup> ±0,15	168,59°±0,12	
AGPI	20,55°±0,15	20,33°±0,10	20,92°±0,12	20,21°±0,09	
n-6	18,40°±0,02	18,04 <sup>b</sup> ±0,03	18,75°±0,02	18,09 <sup>b</sup> ±0,03	
n-3	2,15°±0,24	2,19°±0,18	2,17°±0,15	2,12°±0,12	
AGPI/AGS	$0.06^{a}\pm0.01$	0,06°±0,02	$0.06^{a}\pm0.02$	0,06°±0,02	
n-6/n-3	8,56°±0,01	8,24 <sup>b</sup> ±0,02	8,64°±0,01	8,53°±0,01	

Resultados expressos em percentagem como média±desvio padrão dos resultados das análises em triplicata de quatro diferentes lotes (n=15). AGS = Ácidos Graxos Saturados; AGMI =Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI=ácidos graxos poliinsaturados; n-6=ácidos graxos ômega-6; n-3=ácidos graxos ômega-3. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são significamente diferentes entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade para razões e CLA (Ácido Linoléico Conjugado).

Pela tabela (08), verificamos que os ácidos graxos saturados (AGS) foram os mais abundantes, sendo que dentre estes, os majoritários foram o 16:0, 18:0 e 14:0. O 16:0 foi o AGS predominante em todas as amostras analisadas.

Se compararmos as somatórias de AGS, AGMI e AGPI entre o leite pasteurizado e após o mesmo ser utilizado para fabricação de iogurte, veremos que houve redução de todas no iogurte, isto se deve pelo fato de haver apenas 60% de leite na formulação do iogurte o restante é soro de leite, açúcar, estabilizante e polpa de fruta.

Comparando o teor de CLA do iogurte com o do leite após sofrer o processo de pasteurização, verificou-se um decréscimo de 13,14%, redução menor do que a verificada do leite cru para o pasteurizado, isto se deve ao aquecimento para termizar a mistura para fabricação de iogurte. Com isto é eliminado grande parte do oxigênio dissolvido. Desta maneira, processos de formação de compostos voláteis causados pelo ataque do oxigênio as duplas ligações dos ácidos graxos, são menores, fazendo com que haja menor redução deste ácido graxo no alimento.

Em se tratando da razão n-6/n-3 houve um aumento da mesma, ficando esta entre 8,24 e 8,64. Isto se deve, pois enquanto houve uma redução de apenas 17,88% no total de n-6 após termização, esta redução para n-3 ficou em 46,66%, com isto há um acréscimo natural desta razão. No entanto, o valor ainda esta dentro do recomendado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (FAO, 2007) que sugere a razão da ingestão entre Ômega-6 e Ômega-3 entre 5 e 10.

Os derivados lácteos, assim como o leite, sempre foram apontados como vilões à saúde cardiovascular, devido à alta quantidade de AGS. Porém dados da Pesquisa Contínua sobre Ingestão de Alimento por Indivíduos de 1994-1996 e 1998, dos EUA e confirmados pelo Guia Dietético 2005 dos EUA revelam que a ingestão de alimentos lácteos está associada com melhora nas ingestões de nutrientes essenciais (como cálcio, magnésio, potássio, zinco, ferro, vitamina A, riboflavina e folato) sem efeitos adversos na ingestão de gordura ou colesterol e ajudando a reduzir os riscos de doenças cardíacas coronarianas, direta ou indiretamente. Além disso, a gordura dos alimentos

lácteos contém componentes, como o ácido linoléico conjugado (CLA), e esfingolipídios, que têm demonstrado efeitos benéficos à saúde Por exemplo, evidências científicas emergentes indicam que o CLA e seu precursor, o ácido vacênico (um ácido graxo trans de ocorrência natural), na gordura do leite podem proteger contra o desenvolvimento e a progressão da aterosclerose. Em países como a Alemanha, estudos indicam que, para surtir efeitos anticarcinogênicos, a ingestão diária de CLA deve ser de 360 mg para mulheres e 440 mg para homens, sendo destes, 2/3 provenientes de leite e produtos lácteos e 1/4 provenientes de carne e produtos cárneos (Sieber et al., 2004). Abaixo podemos conferir na figura 06 a quantidade de CLA em mg/200ml de alimento para o leite cru, após pasteurização e para iogurte

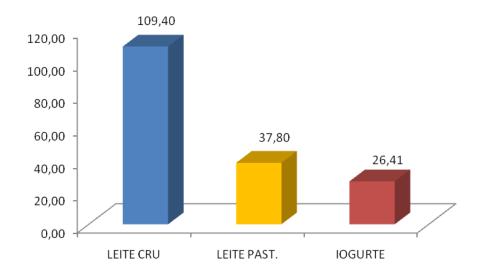


Figura 07: Teor de CLA em mg/200ml, para leite cru, após pasteurização e iogurte

Analisando a figura acima, seria necessário o consumo de 2,5 copos de leite cru ou 6 copos de leite pasteurizado ou 9 copos de iogurte por dia para mulheres, e para homens 3 copos de leite cru ou 8 copos de leite pasteurizado ou 11 copos de iogurte para suprir a quantidade de CLA recomendada por (Sieber et al., 2004)

# 6. CONCLUSÕES

- As composições químicas dos produtos analisados estão dentro do especificado pelo ministério da Agricultura
- Através da técnica da cromatografia gasosa utilizada foi possível a separação, identificação e quantificação de 26 ácidos graxos presentes na gordura dos leites cru, após o mesmo sofrer processo de pasteurização e após este sofrer fermentação para fabricação de iogurtes
- A razão n-6/n-3 para as amostras estão dentro do recomendado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.
- O processo de pasteurização diminui drasticamente o teor de CLA no leite.
- A redução do teor de CLA foi maior na pasteurização do leite, do que na termização da mistura para fermentação da mesma, na produção de iogurte.

# 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackman, R.G., Sipos, J.C. Application of specific response factors in the gas chromatography analysis of methyl esters of fatty acids with flame ionization detectors. Journal of American Oil Chemistry Society, 41: 377-378, 1964.
- Ackman, R.G. The analysis of fatty acids and related materials by gas-liquid chromatography. Progress in the Chemistry of Fats & Other Lipids, 12:165-284, 1972.
- Ackman, R.G. The gas chromatography in practical analysis of common and uncommon fatty acids for the 21st century. Analytical Chemical Acta, 465: 175-192, 2002.
- ACS-American Chemical Society. Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in Environmental Chemistry. Analytical Chemistry, 52: 2242-2249, 1980.
- Allinger, N. L.; Cava, M. P.; de Jongh, D. C.; Johnson, C. R.; Lebel, N. A.; Stevens, C. L. Química Orgânica. Rio de Janeiro: Guanabara, 961p, 1978.
- Bannon, C.D., Breen, G.J., Craske, J.D., Hai, N.T., Harper, N.L., O'Rourke, K.L. Analysis of fattu acid methyl esters with high accuracy and reliability. Journal of Chromatography, 247: 71-89, 1982.
- Barry, E.F. Columns: packed and capillary/column selection in gas chromatography. In: Grob, R.L. (editor). Modern practice of gas chromatography. New Yorl: John Wiley & Sons, 887p., 1995.
- Bauman, D. E. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentration in milk fat. Journal of Dairy of Science, 3(84): 680-690, 2001.
- Behmer, M.L.A. Tecnologia do Leite. Ed. Nobel, 15 ed. São Paulo, 1991.
- Brondz, I. Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques. Analytica Chemical Acta, 465: 1-37, 2002.

- Boccioni, A., Antongiovanni, M., Petacchi, F., Mele, M., Serra, A., Secchiari, P., Benvenuti, D. Effect of dietary fat quality on C18:1 fatty acids and conjugated linoleic acid production: An in vitro rumen fermentation study. Animal Feed Science and Technology, 127: 268-282, 2006.
- Christie, W.W. Some recent advances in the chromatographic analysis of lipids. Analysis, 26: 34-40, 1998.
- Collins, C.H., Braga, G.L., Bonato, P.S. Fundamentos de Cromatografia. Editora Unicamp, Campinas, São Paulo, 2006.
- Ctena, M.L.B., Piroli, M. Leite longa vida: indispensável na cozinha saudável. Editora e Consultoria em nutrição Ltda, São Paulo: 71-73, 1999.
- Cunniff, P.A. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. Arlington: Association of Official Analitical Chemists, v. 2, 1998.
- Cunningham, J. G. Tratado de Fisiologia Veterinária. Edit. Guanabara Koogan, (527p), Rio de Janeiro, 1999.
- Eder, K. Gas chromatography analysis of fatty acid methyl esters. Journal of chromatography B, 671: 113-131, 1995.
- FAO. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, 2007. Disponível em http://faostat.fao.org/site/601/defaut.aspx. Acesso em: 14/02/2010.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. The Journal of biological chemistry. 226(1): 497-509, 1957.
- Frandsom. R.D., Wilke, W.L, Fails, A.D. Anatomia e Fisiologia dos Animais de Fazenda. 6ª ed , Edit. Guanabara Koogan, (454p), Rio de Janeiro, 2003.
- Fuente, M.A. de la; Luna, P.; Juarez, M. Chromatographic techniques to determine conjugated linoleic acid isomers. Trends in Analytical Chemistry, 25(9): 917-926, 2006.
- Gurtler, H., Ketz, H. A., Schroder, L. Fisiologia Veterinária. 4ª ed, Edit. Guanabara (610p), Rio de Janeiro, 1984.
- Ledoux, M., Laloux, L., Wolff, R.L. Analytical methods for determination of trans-C18 fatty acid isomers in milk fat. A review. Analysis, 28: 402-412, 2000.

- Martin, C.A. Milinsk, M.C., Visentainer, J.V., Matsushita, M., Souza, N.E. Trans fatty acid-forming processes in foods: a rewiew. Annals of the Brazilian Academy of Sciences, 79(2):343-350, 2007.
- Maynard, L. A.; Loosli, J.K., Hintz, H.F., Warner, R.G. Nutrição Animal. Trad. Antonio B. Neiva Figueiredo. 3ªed, Edit. Freitas Bastos (736p), Rio De Janeiro, 1984.
- Milinsk, M.C, Matsushita, M., Visentainer, J.V., Oliveira, C.C., Souza, N.E. Comparative analysis of eight esterification methods in the quantitative determination of vegetable oil fatty acid methyl esters (FAME). Journal of Brazilian Chemical Society, in press, 2008.
- Mourão, D. M.; Monteiro, J.B.R.; Costa, N.M.B.; Stringheta, P. C.; Minin, V.P.R.; Dias, C.M.G.C. Ácido linoléico conjugado e perda de peso. Brazilian Journal of Nutrition. Campinas, 18(3):391-399, 2005.
- Ou, L., Ip, C., Lisafeld, B., Ip. M.M. Conjugated linoleic acid induces apoptosis of murine mammary tumor cells via Bcl-2 loss. Biochemical and Biophysical Research Communications, 356: 1044–1049, 2007.
- Parodi, P.W. Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk. Australian Dairy Technology, 49: 93-97, 1994.
- Pereda, J.A. Tecnologia de los alimentos. Volume II: alimentos de origem animal. Espanha: Editorial Síntesis, 75-78, 2005.
- Pereda, J.A., Jaramillo, D.P., Quevedo, J.M., Ferragut, V., Guamis, B., Trujillo, A.J. Characterization of volatile compounds in ultra-high-pressure homogenized milk. International Dairy Journal, 18: 826–834, 2008.
- Ratnayake, W.M.N. Analysis of trans fatty acids. In: Sebédio, J.L., Christie, W.W. (editors). Trans fatty acids in human nutrition. Dundee: The oil press, 1998.
- Raynal-Ljutovac, K., Park, Y.W., Gaucheron, F., Bouhallab, S. Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. Small Ruminant Research 68: 207–220, 2007.
- Roach, J.A.G.; Mossoba, M.M.; Yurawecz, M.P., Kramer, J.K.G. Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. Analytica Chimica Acta, 465: 207–226, 2002.

- Rynnea, N.M., Beresforda, T.P., Kellyb, A.L., Guineea, T.P. Effect of milk pasteurization temperature and in situ whey protein denaturation on the composition, texture and heat-induced functionality of half-fat Cheddar cheese. International Dairy Journal, 14: 989–1001, 2004.
- Schmidt, G.H. Biologia de la lactacion. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha (307p), 1974.
- Seçkin K.A.; Gursoy, O; Kinik O.; Akbulut, N. Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products. Food Science and Technology, 38: 909–915, 2005.
- Sieber, R; Collomba, M.; Aeschlimann, A.; Jelen, P.; Eyer, H. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products—a review. International Dairy Journal, 14: 1–15, 2004.
- Thalpur, F. N.; Bhanger, M.I.; Khuhawar, M.Y. Comparison of fatty acids and cholesterol content in the milk of Pakistani cow breeds. Journal of Food Composition and Analysis, 19: 698-703, 2006.
- U.S. Department of Health and Human Services and the U.S. Department of Agriculture. Dietary Guidelines for Americans 2005. www.healthierus.gov/dietaryguidelines/ Accessed January 12, 2005.
- Vilela, Duarte; Leite, José Luiz Bellini; Resende, João Cesar. Políticas para o Leite no Brasil: Passado, presente e futuro. Anais do Sul- Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil / editores Geraldo Tadeu dos Santos et al. – Maringá: UEM/CCA/DZO – NUPEL, 1-26, 2002.
- Visentainer, J.V. e Franco, M.R.B. Ácidos Graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação. Ed. Varela, São Paulo, 2006.

# **Livros Grátis**

( <a href="http://www.livrosgratis.com.br">http://www.livrosgratis.com.br</a>)

# Milhares de Livros para Download:

<u>Baixar</u>	livros	de	Adm	inis	tra	ção

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