

Universidade Federal de Juiz de Fora
Instituto de Ciências Exatas
Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados

Rosana Fonseca Gonçalves

**“MONITORAMENTO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO QUEIJO MINAS
PADRÃO ENRIQUECIDO COM CLA DURANTE O PROCESSO DE
MATURAÇÃO”**

Juiz de Fora

2016



Rosana Fonseca Gonçalves

**“MONITORAMENTO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO QUEIJO MINAS
PADRÃO ENRIQUECIDO COM CLA DURANTE O PROCESSO DE
MATURAÇÃO”**

**Tese apresentada ao Programa
De Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia do Leite e Derivados,
área de concentração: Química
Analítica, Embrapa e Universidade
Federal de Juiz de Fora como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre.**

Orientador: Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Gonçalves Costa Júnior

JUIZ DE FORA

2016

AGRADECIMENTOS

Considero essa dissertação uma vitória; o resultado de uma busca intensa, uma jornada difícil, muita dedicação e comprometimento marcam esse momento na minha vida. E só consegui chegar aqui hoje, porque estive rodeada de pessoas maravilhosas a quem eu só tenho que agradecer.

Agradeço:

Ao meu marido por sempre me apoiar e estar ao meu lado de forma incondicional.

Ao meu filho que só me faz querer crescer, quero ser pra ele um exemplo de determinação, nosso amor só me dá forças para sempre querer mais.

Aos meus pais que sempre, sempre estão ao meu lado.

A minha irmã, meu anjo da guarda, que está comigo para o que der e vier.

Ao meu irmão e minha cunhada que se enchem de orgulho com minhas vitórias.

A Deus por me abrir caminhos que jamais imaginei que poderiam se abrir.

Ao meu orientador Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira, que sempre esteve disposto a me atender e com toda paciência do mundo me ajudar em todos os momentos.

Ao meu co-orientador Dr. Luiz Carlos Gonçalves Costa Junior, que desde o primeiro momento, com sua simpatia e conhecimento me ajudou a chegar até aqui.

Ao professor Dr. Marco Antonio Sundfeld da Gama, uma pessoa maravilhosa, a quem devo muito, sua ajuda foi imprescindível.

A todos os professores da EMBRAPA, ILCT e UFJF pelo apoio e ensinamentos.

Aos professores participantes da banca, pela disponibilidade de contribuir com meu trabalho.

A todos do laboratório da EMBRAPA, ILCT, UFJF, sempre dispostos a me ajudar.

Ao Armando que foi fundamental para o início desse projeto.

A minha amiga Ariane que foi fundamental, sempre me ajudando e apoiando.

Muito Obrigada!

Resumo

Foi proposto para esse trabalho, obter leite enriquecido com CLA manipulando a dieta de vacas com adição de óleos vegetais ricos em ácido linoleicos e assim, fabricar queijo Minas Padrão, comparando-o com aquele produzido tradicionalmente. Os ácidos graxos foram quantificados por meio de análise por cromatografia gasosa, identificados pela comparação dos tempos de retenção do padrão fame-mix e demais padrões comerciais, foram obtidos 62 picos. Os resultados obtidos se mostraram satisfatórios, tanto para o aumento de CLA no leite, como também para sua presença sem alterações nos queijos, o teor de C18:1 trans-11 no leite apresentou em média, um aumento de 1,367g/100g de gordura (120,76%); e o CLA Cis-9 trans-11 apresentou em média um aumento de 0,535g/100g de gordura (95.36%). Durante o processo de maturação o teor de CLA não apresentou alterações. Foi realizada análise sensorial com 30 provadores não treinados/tratamento/repetição, de forma a comparar os queijos obtidos com e sem CLA e observou-se mesma aceitação entre tratamentos. Conseguiu-se obter um derivado do leite, queijo Minas Padrão dentro da classe de alimentos funcionais, o qual tem sido uma busca persistente do mercado consumidor que tem se mostrado exigente quanto à qualidade nutricional.

Palavras chaves: Ácido graxo. Ácido linoleico conjugado. Alimentos funcionais. Laticínios.

ABSTRACT

It has been proposed for this work to obtain milk enriched with CLA manipulating the diet of cows adding vegetable oils rich in linoleic acid and thus produce fresh cheese, comparing it to the one traditionally produced. Fatty acids were quantified through gas chromatographic analysis, identified by comparison between the retention time of fame-mix standard and other commercial standards, 62 peaks were obtained. The results obtained proved to be satisfactory, as much in the increase of CLA in milk, as on its presence without changes in the cheeses, the level of C18:1 trans-11 in milk showed an average increase of 1.367g/100g of fat (120.76%); and CLA Cis-9 trans-11 showed an average increase of 0.535g/100g of fat (95.36%). During the maturation process the level of CLA didn't present changes. A sensory analysis was performed with 30 untrained tasters/ treatment/ repetition, in order to compare the obtained cheeses with and without CLA and the same acceptance among treatments was observed. It was possible to obtain a dairy product, fresh cheese within the class of functional foods, which has been a persistent pursuit of the consumer market that has proven to be demanding regarding nutritional quality.

Keywords: Fatty acid. CLA. Conjugated linoleic acid. Functional foods. Fresh cheese.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura esquemática de isômeros do ácido linoleico (C18:2).....	17
Figura 2 - Coluna Capilar cianopropil + silicone, CPSIL 88.....	21
Figura 3 – Representação esquemática de um cromatógrafo a gás.....	22
Figura 4 - Representação esquemática de uma reação de esterificação.....	23
Figura 5 – Balde de Graduação.....	25
Figura 6 – Representação esquemática da Fabricação do QMP.....	31
Figura 7 – Preparo da solução de metilação.....	33
Figura 8 – Preparo da solução de terminação.....	34
Figura 9 - Extração lipídica.....	35
Figura 10 - Transesterificação no leite.....	37
Figura 11 - Extração lipídica no QMP.....	39
Figura 12 - Transesterificação lipídica no QMP.....	41
Figura 13 – Representação esquemática da rampa de aquecimento no CG...	42
Figura 14 - Representação esquemática da tabela para análise sensorial.....	43
Figura 15 – Representação gráfica box plot do cis-9 trans-11; C18:1 trans-11 em amostras de leite	45
Figura 16 - Cromatograma das amostras de leite sem enriquecimento de CLA	45
Figura 17 - Cromatograma das amostras de leite com enriquecimento de CLA	46
Figura 18 – Representação gráfica box plot do cis-9 trans-11; C18:1 trans-11 em amostras de leite e de QMP Enriquecidas com CLA	47
Figura 19 – Representação gráfica box plot do C12:0; C16:0; C14:0 em amostras de QMP (Com 20 dias de maturação)	48

Figura 20 – Representação gráfica box plot do Cis-9 tran-11; C18:1 trans-11 em amostras de QMP (Com 20 dias de maturação)	50
Figura 21 – Representação gráfica box plot do C15:0; C15:0 ISO em amostras de QMP (Com 20 dias de maturação)	51
Figura 22 – Representação gráfica box plot do C18:1; C18:0 em amostras de QMP (Com 20 dias de maturação)	53
Figura 23 - Representação esquemática da bio-hidrogenação.....	53
Figura 24 – Representação gráfica box plot do C18:1 trans-11; C18:2 cis-9; cis-9 trans-11 em amostras de QMP (Com 20 e 60 dias de maturação)	56
Figura 25 - Cromatograma das amostras de QMP (20dias de maturação) com tratamento	56
Figura 26 - Cromatograma das amostras de QMP (60dias de maturação) com tratamento	57
Figura 27 – Gráfico com amostras enriquecidas com CLA	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Volumes de leite produzidos sem enriquecimento de CLA, por cada grupo de vacas	26
Tabela 2 - Volumes de leite produzidos, enriquecido com CLA de cada grupo de vacas.....	26
Tabela 3 - Divisão das amostras de QMP, de acordo com tratamento e maturação.....	27
Tabela 4 – Adição de ingredientes tecnológicos na produção dos QMP experimentais.....	29
Tabela 5 – Preparo da solução de metilação	32
Tabela 6 – Resultados de C18:1t-11 e C:9t-11 nas amostras de leite.....	44
Tabela 7 – Resultados de C18:1t-11 e C:9 t-11 em amostras do QMP.....	46
Tabela 8 - Resultados de C12:0, C14:0 Iso, C14:0 nas amostras de QMP....	48
Tabela 9 – Resultados de CLA Cis-9 t-11, e C18:1 t-11 nas amostras de QMP(20dias de maturação).....	49
Tabela 10 - Resultados de C15:0 Iso, e C15;0 em amostras de QMP.....	51
Tabela 11 - Resultados de C18:1 t-9, e C18:1 t-10 em amostras de QMP.....	52
Tabela 12 - Resultados do C18:1t-11, C18:2t11 e C9t11 em diferentes estágios de maturação.....	42
Tabela 12 - Rendimento (L/kg) dos QMP.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CLA	Ácido Linoleico Conjugado
MeOH	Metanol
QMP	Queijo Minas padrão
GC	Cromatografia Gasosa
AG	Ácido Graxo
FID	Detector de Ionização de Chama
rpm	Rotações Por Minuto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	11
CAPÍTULO 2 - REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1– LEITE.....	12
2.1.1 – CLA.....	15
2.1.2 – QMP.....	18
2.1.3 - ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS EM LEITE E DERIVADOS.....	20
2.1.4 – ANÁLISE SENSORIAL.....	23
CAPÍTULO 3 – OBJETIVO.....	24
CAPÍTULO 4 – PARTE EXPERIMENTAL.....	25
4.1 – MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1.1 – AMOSTRAS DE LEITE.....	25
4.1.2 – AMOSTRAS DE QMP	27
4.1.3 – PADRONIZAÇÃO	28
4.1.4 – PASTEURIZAÇÃO DO LEITE COM E SEM TRATAMENTO.....	28
4.1.5 - FABRICAÇÃO DO QMP NOS TRATAMENTOS COM E SEM ENRIQUECIMENTO DE CLA	28
4.1.6 – REAGENTES E SOLVENTES UTILIZADOS.....	31
4.1.7 – EQUIPAMENTOS.....	32
4.1.8 – PREPARO DA SOLUÇÃO DE METILAÇÃO.....	32
4.1.9 – PREPARO DA SOLUÇÃO DE TERMINAÇÃO.....	33
4.2 – EXTRAÇÃO LIPÍDICA NO LEITE.....	34
4.2.1 – TRANSESTERIFICAÇÃO LIPÍDICA NO LEITE	36

4.2.2 – EXTRAÇÃO LIPÍDICA NO QUEIJO.....	37
4.2.3 - TRANSESTERIFICAÇÃO LIPÍDICA NO QUEIJO	39
4.2.4 – INSTRUMENTAÇÃO.....	41
4.2.5 – ANÁLISE SENSORIAL	42
CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1 – TEOR DE CLA	44
5.1.1 – EFEITOS DA MATURAÇÃO	54
5.1.2 – ANALISE SENSORIAL.....	58
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÃO	59
CAPÍTULO 7 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
CAPÍTULO 8 – BIBLIOGRAFIA	61

1. INTRODUÇÃO

A busca por uma vida de qualidade e o bem-estar físico é uma preocupação cada vez mais presente na sociedade e está associada à felicidade, “Que o alimento seja o teu medicamento e o medicamento seja teu alimento” pregava Hipócrates- o Pai da Medicina – 400 anos antes de Cristo. Com isso hoje há uma intensa busca por alimentos funcionais a fim de se manter uma dieta correta, saudável e equilibrada.

Estudos na área de alimentos funcionais são fundamentais para a prevenção de enfermidades atingidas por grande parte da população, como doenças cardiovasculares, obesidade, câncer dentre outras, a alimentação saudável pode desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas.

Leite e seus derivados são alimentos que ao longo dos anos, tem sofrido recomendações de restrição na sua ingestão, isso devido à presença de gorduras, e a sua suposta associação com a elevação no risco de ocorrência de doenças cardiovasculares e obesidade. Infelizmente, a percepção do público em geral, e mesmo de parte da comunidade científica, é que a gordura seja um ponto negativo dos lácteos, provocando diminuição do consumo de leite e derivados, e buscando conceito de uma dieta saudável. Evidências científicas têm demonstrado, que ao contrário do que se pensava o consumo de produtos lácteos não aumenta os riscos de doenças cardiovasculares e obesidade. Mas pesquisas atuais apontam para o possível efeito cardioprotetor exercido pela gordura do leite, que parece estar vinculado a um tipo de ácido graxo, em especial, o ácido linoleico conjugado dentre outros (CLA, do inglês “conjugated linoleic acid”).

Além de possível diminuição dos riscos de várias doenças, a presença de ácidos graxos na alimentação tem se mostrado cada vez mais benéfica, hoje já existem produtos desenvolvidos com aumento na concentração de determinados ácidos graxos, encontramos relatos na literatura de suplementação de ácidos graxos (ômega-3) para indivíduos em treinamento de

força, e os resultados mostraram um aumento significativo da força nos indivíduos durante a suplementação (Motriz, 2001). Há relatos de manteiga nutricionalmente mais adequada ao consumo humano, com menor concentração de ácidos graxos saturados de cadeia média e teores mais elevados dos ácidos oleico, vacênico e rumênico (GAMA, 2008).

2 – REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 O Leite

O leite e seus derivados estão presentes na dieta de mais de 6 bilhões de pessoas no mundo (HEMME & OTTE, 2010), e vem sendo utilizados na alimentação há milhares de anos ao longo da história da humanidade. O leite é composto por 87,5% de água, 12,5% de extrato seco total, sendo: 3,5% de proteína, 4,7% de lactose, 3,5% de gordura e 0,8% e minerais. Sendo que dos 3,5% de gordura, temos 66,9% de ácidos graxos saturados e 33,1% de ácidos graxos insaturados (MODESTO, 2002). De acordo com a INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62/2011 (REGULAMENTO TÉCNICO DO LEITE) que gera parâmetros para a qualidade do leite, hoje existe uma tendência clara a valorização do leite que atenda as exigências de qualidade, para isso é necessário à higiene do animal, do ordenhador e das instalações, visando uma baixa contagem de bactérias (SPENCER, 2000), (MARTINS,2002).

Deve-se:

- Manter a sala ou local de ordenha sempre limpos;
- Usar roupas limpas para ordenhar as vacas;
- Usar água de boa qualidade (potável);
- Lavar as mãos e mantê-las limpas durante a ordenha;
- Imergir as tetas em solução desinfetante antes e após a ordenha;
- Secar as tetas com papel toalha;
- Lavar os equipamentos e utensílios após cada ordenha com água aquecida;

- Trocar borrachas e mangueiras do equipamento de ordenha na frequência recomendada pelo fabricante ou quando ocorrerem rachaduras;

Um teste importante e prático a ser realizado durante cada ordenha é o teste da caneca telada ou de fundo escuro. Ele detecta a mastite clínica nos primeiros jatos de leite. Quando a mastite clínica aparece, há um depósito de leucócitos (células de defesa) no canal da teta e estes leucócitos formam grumos que são visualizados logo nos primeiros jatos de leite. Estes primeiros jatos devem ser depositados na caneca de fundo escuro ou telada onde os grumos serão visualizados com mais facilidade. Devido ao contraste do fundo da caneca com os próprios grumos, estes ficam mais aparentes, neste caso está-se diante de uma mastite clínica. A mastite é a inflamação da glândula mamária. É causada pelos mais diversos agentes. Os agentes mais comuns causadores de mastites são as bactérias dos gêneros estreptococos e estafilococos. Outros agentes de importância causadores de mastites são os coliformes (Bressan, 2000)

Vale ressaltar que as mastites ambientais são esporádicas e podem acometer qualquer dos animais em lactação (Dias, 2007).

O leite apresenta variações em sua composição, pesquisas indicam que mais de 60% dessas variações na composição do leite, são devidos a fatores genéticos. Outros fatores que afetam a composição do leite são os ambientais, relacionados ao estágio de lactação, prática de ordenha e clima, além do manejo da alimentação, nutrição e incidência de doenças (FONSECA, 2000)(FONTANELLI, 2000).

A gordura é o componente do leite sujeito à maior oscilação, variando entre 2 e 3 unidades percentuais. Os fatores genéticos tem influência sobre os níveis de gordura do leite, mas as principais causas dessas alterações são de origem nutricional. Os principais fatores nutricionais que podem alterar os níveis de gordura do leite são: a relação volumoso concentrado, a fibra efetiva, o tipo de concentrado e o seu processamento, a inclusão de gordura na dieta (CARVALHO, 2000).

Com a maior quantidade de concentrado na dieta, diminui a proporção de acetato:propionato, acarretando menor degradação da porção fibrosa (forragem) da dieta. Menor digestão de fibra reduz a produção de ácido acético, que é um dos principais precursores da gordura do leite, a sua redução está diretamente relacionada com a diminuição da gordura do leite (ENJALBERT,1998).

A fibra efetiva de um alimento corresponde às propriedades do alimento que estimulam a mastigação, e, conseqüentemente, maior estímulo à produção de saliva, a qual contém substâncias (tamponantes) capazes de evitar a redução do pH ruminal. Mantendo pH estável, ocorre maior digestão da fibra em favor das bactérias celulolíticas do rumem, que serão responsáveis pela produção de ácido acético (OLIVEIRA, 1999).

Concentrados, como farelo de glúten, casca de soja e farelo de trigo contêm carboidratos de alta digestibilidade, porém não alteram o pH, conseqüentemente, não diminuem o teor de gordura no leite. Os concentrados com alto teor de amido, como milho, sorgo e cevada, diminuem o pH, prejudicando o desenvolvimento das bactérias celulolíticas do rumem, promovendo uma diminuição do teor de gordura do leite (MOREIRA, 2000).

A moagem muito fina de grãos aumenta a fermentação, aumenta a digestão, reduzindo o pH ruminal, e com isso, provoca uma redução de gordura do leite (DHIMAM, 2002).

2.1.1 CLA

Estudo sugerem que o CLA apresenta potentes atividades bioquímicas e fisiológicas, protegendo o organismo contra enfermidades crônicas como doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, arteriosclerose, antitrombóticas e ainda alguns tipos de câncer (SEBÉDIO et al.,1999) (Pariza,2004). O CLA é um composto natural, existente em diversas formas, de acordo com o arranjo de suas moléculas. A principal fonte de CLA na alimentação dos seres humanos é proveniente da gordura do leite e da carne de animais ruminantes, o cis-9, trans-11 é o principal isômero presente na gordura do leite (KHANAL et, al. 2005).

O CLA encontrado na gordura do leite origina de duas fontes: uma é formada durante a biohidrogenação ruminal de ácido linoleico pelas bactérias do rúmen; e a segunda é sintetizada na glândula mamária. (BAUMAN et al. 1999, ARIZA, 2001). Estudos estão sendo realizados na busca da quantidade necessária da ingestão diária, para que o CLA exerça seus efeitos benéficos (IP et all., 1991).

O estudo realizado por Shantha, Crum e Decker (1994) nos Estados Unidos mostrou que o teor de CLA no leite variou de 0,63% a 1,16% e em queijos variou de 0,40 a 1,70% do total de ácidos graxos.

No Brasil a ingestão média de CLA é estimada em 36 mg.dia-1. (NUNES; TORRES, 2010). Contudo, uma das maneiras de se aumentar a quantidade de CLA no leite, ou seja, obter um leite enriquecido com CLA é manipular a dieta de vacas com adição de óleos vegetais ricos em ácido linoleicos. Já existem estudos analisando o perfil de ácidos graxos do leite de vacas que receberam níveis crescentes de óleo de girassol em dietas á base de capim-elefante, apesar da maior ingestão diária de ácido linoleico com o aumento do nível de OG na dieta, sua concentração de gorduras não foi alterada, ou seja, ocorreu uma melhoria da qualidade nutricional da gordura do leite (GAMA, LOPES, 2014).

A sigla CLA é usada para descrever uma família de isômeros do ácido octadecadienóico (18:2), que possui um par de ligações duplas conjugadas ao longo da cadeia alquila.

Isomeria é o fenômeno relacionado à existência de dois ou mais compostos químicos com fórmulas e massas moleculares idênticas, mas propriedades diferentes. O conceito de isomeria envolve, portanto, aspectos relacionados com a posição dos átomos na molécula e a natureza das ligações atômicas. O CLA é a denominação comum de um grupo de ácidos graxos com 18 átomos de carbono, consistindo num grupo de isômeros de posição e geométricos com duas duplas ligações conjugadas (KELLY, 2001).

Teoricamente, as ligações duplas podem existir em qualquer local dos carbonos C2 a C18, para produzir inúmeras estruturas possíveis de isômeros.

O termo ácido linoléico conjugado refere-se a uma mistura de isômeros geométricos (combinações de configurações: cis-cis, trans-cis, cis-trans e trans-trans) e posicionais (duplas ligações nas posições 8 e 10; 9 e 11; 10 e 12; 11 e 13) do ácido linoléico (ácido octadecadienóico cis-9, cis-12 ou C18:2 n-6 cis, n-9 cis), onde as insaturações são conjugadas, ou seja, separadas por simples ligações carbono-carbono (Bessa et al., 2000)

Foram relatadas formas isoméricas de ácido octadecadienóico contendo ligações duplas conjugadas nas posições 7,9; 8,10; 9,11; 10,12; 11,13; e 12,14, em misturas de CLA quimicamente preparadas ou em produtos naturais. Cada um dos referidos isômeros posicionais de dienos conjugados pode ocorrer em uma ou mais das quatro seguintes configurações geométricas: cis-trans; trans-cis; cis-cis; ou trans-trans, o que daria 24 possíveis isômeros de CLA (RALOFF, 2001). São denominados ácidos graxos trans, quando os hidrogênios da dupla ligação se encontram em lados opostos em relação à cadeia carbônica, neste caso, os ácidos graxos insaturados estão na configuração trans, e o ácido graxo apresenta-se como uma cadeia praticamente linear (VISENTAINER; FRANCO, 2006).

Ácido linoléico conjugado (CLA) é o nome dado ao grupo de isômeros posicionais e geométricos do ácido octadecadienóico (18:2) (Figura 1).

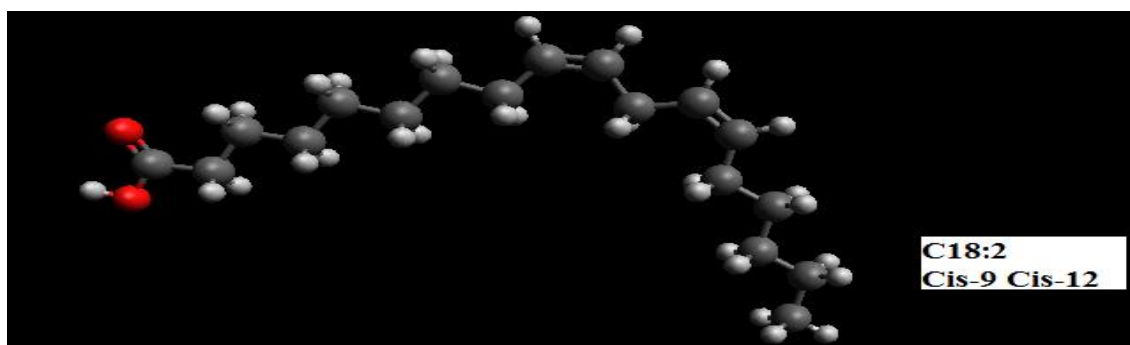
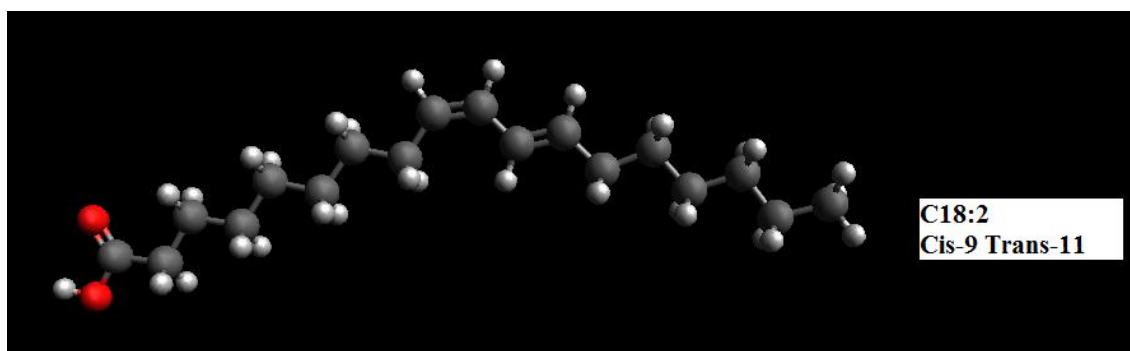
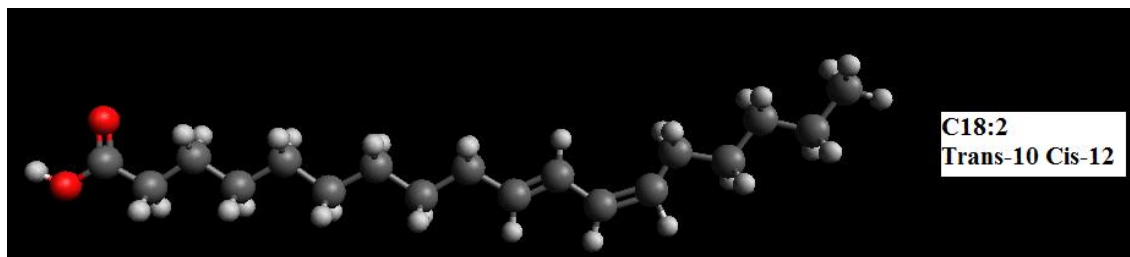


Figura-1- Estrutura esquemática de isômeros do ácido linoleico (C18:2).

Fonte: A AUTORA

2.1.2 Queijo Minas Padrão

O Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária define queijo como: “Produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

O agronegócio brasileiro tem sido apontado como a grande âncora da economia e nesse contexto se destaca a cadeia do leite, tendo Minas Gerais como berço deste agronegócio com participação de 28,8% da produção nacional (DUSI e ASSIS, 2011). Dados divulgados pelo IBGE (2011) dos 32 bilhões de litros de leite produzidos em 2011 no Brasil, 67,9% foram adquiridos pelas indústrias de laticínios que funcionam com serviços de inspeção sanitária e o restante, descontando as perdas, fica para consumo próprio e produção artesanal de queijos e derivados (DUSI e ASSIS, 2011).

Os queijos apresentam destaque entre os derivados lácteos pelos elevados teores lipídico, proteico e mineral, uma vez que concentra tais nutrientes presentes no leite. A qualidade dos ácidos graxos e aminoácidos que compõe as gorduras e proteínas, respectivamente, presentes no queijo aprimoram sua qualidade nutricional (MORENO, 2013).

O queijo Minas Padrão é originalmente brasileiro, sua origem é do século XIX. O queijo Minas Padrão é um dos queijos mais populares no Brasil e de intensa fabricação no estado de Minas Gerais, é de simples elaboração e de muita versatilidade na culinária. Esse queijo ainda hoje pela legislação brasileira, não possui um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade estabelecido e é uma das razões para se explicarem as mudanças observadas na sua apresentação atual no mercado e as variações consideráveis de composição (BRUMANO, et. al. 2011).

É também conhecido como: Minas Curado, Minas Prensado, Minas Padronizado e Minas Pasteurizado, em algumas regiões do país (ABIQ, 2012a; ENGETECNO, 2012).

É um produto que, obrigatoriamente, deve-se empregar leite pasteurizado e padronizado no teor de gordura com 3,2%-3,4% (m/m). O queijo Minas padrão tradicional, considerado pela legislação como produto de alta umidade que varia de 46 a 50%, essa variação é proveniente do corte de sua coalhada que tem seu tamanho considerado como médio (ENGETECNO, 2012; FURTADO, 2005; BRASIL, 1996). Em relação à quantidade de gordura, em torno de 30%, pode ser classificado como semigordo, esse teor depende da sua elaboração (ENGETECNO, 2012; BRASIL, 1996). O sal é responsável pela eliminação das bactérias patogênicas (QUÍMICA NOVA, 2004) e sua quantidade no queijo varia entre 1,4 a 1,6% (ENGETECNO, 2012). O fermento garante as características e a sanidade do produto (QUÍMICA NOVA, 2004).

Suas características vêm através do método de “curar”, que na prática é envelhecer o queijo, fazendo com que haja perda de umidade. Neste processo é necessário total cuidado com higiene, mantendo um local limpo, fresco e arejado (QUEIJO NO BRASIL, 2012c). É classificado como queijo maturado, sem corante e prensado, tendo em média 25 dias para que ocorra sua maturação completa, com o cuidado de virá-lo todos os dias e sua vida de prateleira é relativamente longa variando de 2 a 3 meses, com um controle rígido de temperatura, mantendo esse cuidado evita a perda precoce do alimento (ABIQ, 2012a; QUEIJO NO BRASIL, 2012a; ALBUQUERQUE e COUTO, 2005; FURTADO, 2005).

A maturação do queijo é caracterizada por uma série de mudanças físicas, químicas e microbiológicas que afetam os principais componentes do queijo. As mudanças que envolvem lipídeos e proteínas são as mais características e significativas (Fernandez-Salgueiro et al.,1988).

2.1.3 Alimentos Enriquecidos x Alimentos Funcionais

De acordo com a portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998, considera-se alimento enriquecido, todo alimento ao qual for adicionada substância nutriente, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo, seja repondo quantitativamente os nutrientes destruídos durante o processamento do alimento, seja suplementando-os com nutrientes em nível superior ao seu conteúdo normal.

Alimentos funcionais Segundo a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) é definido como "aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido, como parte da dieta habitual, produz efeitos benéficos à saúde". Têm sido muito estudado e embora não curem, apresentam componentes ativos capazes de prevenir ou reduzir o risco de algumas doenças(CARDOSO & OLIVEIRA, 2008).

Pesquisas nessa área, vem se intensificando, visando um mercado de ampla expansão no mundo, os chamados alimentos funcionais, e buscando atender o mercado consumidor que tem sido exigente com qualidade nutricional.

2.1.3 Análise de ácidos graxos em leite e derivados

A técnica clássica utilizada para análise de ácidos graxos é a cromatografia gasosa (GC, do inglês "gas chromatography"), que é uma técnica de separação e análise de misturas de compostos voláteis, que ao serem carreados pela fase móvel (gás de arraste) podem sofrer interação com uma fase estacionária conveniente. O equipamento de GC pode ser dividido em quatro partes principais: suprimento de gás de arraste, sistema de injeção da amostra, colunas e forno da coluna e sistema de detecção. A fase estacionária é uma camada microscópica de líquido ou polímero sobre um sólido inerte, dentro de uma peça tubular chamada coluna. No caso específico da determinação de ácidos graxos, utiliza-se convencionalmente uma coluna de cianopropil e silicone. Os gases de arraste devem ser quimicamente inertes e os mais utilizados são o hidrogênio, hélio, nitrogênio ou argônio. A escolha do

gás de arraste depende principalmente do tipo de detector utilizado (Éder,1995).

Utilizando uma microseringa, a amostra é introduzida em câmara aquecida (injetor) e imediatamente vaporizada a temperatura constante de 250 °C, garantindo que as amostras sejam volatilizadas e se mantendo estáveis. O mecanismo de separação associado aos analitos fundamenta-se num processo relacionado a dois fenômenos: temperatura de ebulição e interação com a fase estacionária. Analitos que apresentam mesma característica de polaridade, mas pontos de ebulição distintos, no qual o mais volátil irá eluir primeiro (Christie, 1989). Por outro lado, se os analitos apresentam mesmo ponto de ebulição, mas polaridades distintas, aquele que apresentar maior interação com os sítios da fase estacionária irá apresentar tempo de retenção maior (Ackman, 2002). As colunas mais utilizadas hoje, são as colunas capilares, que proporcionam análises mais rápidas, possuem comprimento que varia de 2 até 100 m e precisam ser submetidas a altas temperaturas bem controladas para manter os analitos em sua forma gasosa após a injeção (Figura 2).

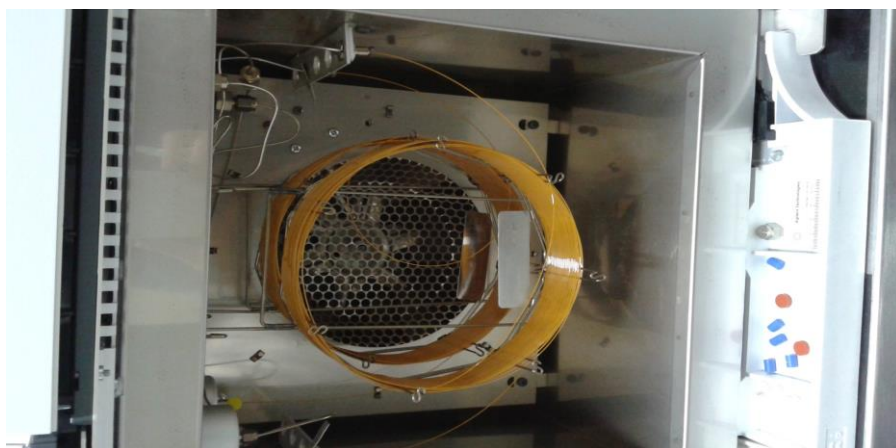


Figura 2 - Coluna Capilar cianopropil + silicone, CPSIL 88.

Fonte: A AUTORA

A detecção de cada um dos componentes pode ser obtida por meio de diversos tipos de detectores, situados na saída da coluna de separação e monitoram o sinal dos componentes separados presentes no gás de arraste que elui da coluna. O detector de ionização de chama é conhecido pela sigla

FID, do inglês “flame ionization detector”. A sua utilização baseia-se na medição da variação da corrente de ionização da chama de hidrogênio/ar na presença das substâncias eluídas. Compostos de carbono, incluindo os ésteres de AG, ao serem pirolisados produzem íons e elétrons capazes de conduzir eletricidade, a qual é amplificada, convertida e registrada. O sinal de saída do detector entra num registrador que gera o cromatograma (SKOOG et al., 2006).

Abaixo observa-se representação esquemática simples de cromatógrafo a gás. (Figura 3)

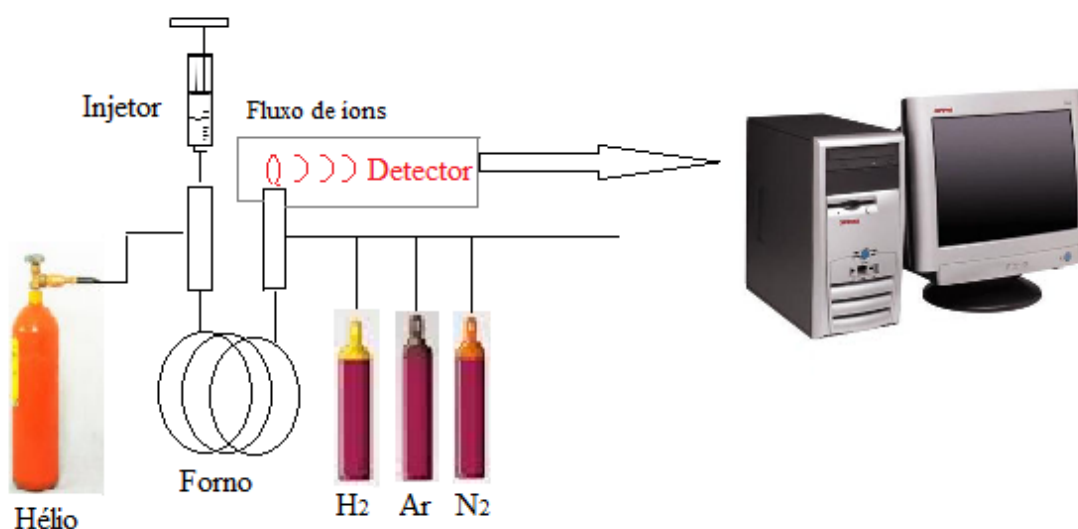


Figura 3 - Representação esquemática de um cromatógrafo a gás.

Fonte: A AUTORA

A obtenção do perfil de ácidos graxos no leite, por cromatografia a gás, requer a preparação das amostras, num processo que envolve a extração e metilação da parte lipídica. Na esterificação os ácidos graxos são convertidos em compostos mais voláteis, como ésteres metílicos de ácidos graxos, o qual é uma condição imprescindível para se trabalhar com a técnica de cromatografia gasosa. (Figura 4).

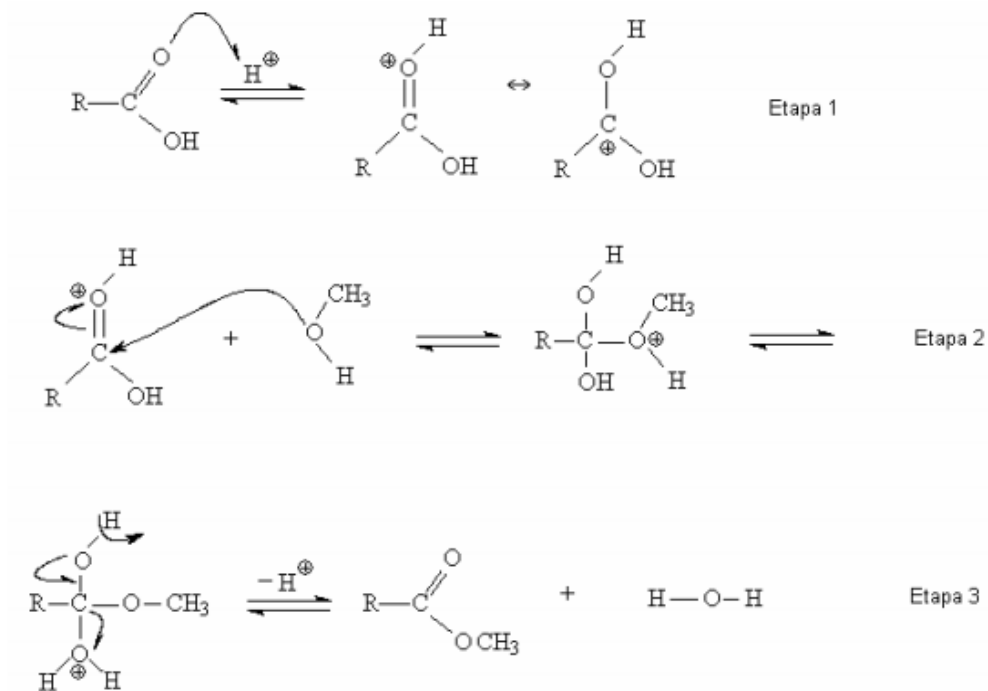


Figura 4 - Representação esquemática de uma reação de esterificação.

2.1.4 Análise Sensorial

A análise sensorial é definida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), como a ciência usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações humanas referente às características dos alimentos e matérias, percebidas pelos sentidos: paladar, olfato, tato, visão e audição. (ABNT, 1993)

É uma ciência que estuda as percepções, sensações e reações do consumidor referente à aceitação ou não de um determinado produto. A análise sensorial tem se mostrado importante ferramenta no processo de atender os anseios dos consumidores em relação a seus produtos. (MINIM, 2006)

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Estudo exploratório da produção de queijo minas padrão enriquecido com CLA.

3.2 Específicos

- * Produzir o leite enriquecido com CLA alterando a dieta de animais.
- * Produzir um QMP enriquecido com CLA.
- * Avaliar o perfil de ácidos graxos.
- * Verificar o comportamento do teor de CLA nos queijos ao longo do processo de maturação.
- * Avaliar possíveis diferenças de aceitação sensorial do QMP sem enriquecimento de CLA e com enriquecimento de CLA.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1- Material e Métodos

4.1.1- Amostras de Leite

O experimento foi realizado com dois tratamentos: com enriquecimento de CLA e sem enriquecimento de CLA, em três repetições.

Foram coletadas amostras de leite sem enriquecimento de CLA, no sítio das Colinas no município de Guarani. O processo de ordenha foi mecânica e foram realizados teste da caneca de fundo escuro, pré e pós-dipping. O rebanho estava entre a 1ª e a 3ª cria, e as raças eram: raça holandês puro, $\frac{3}{4}$, $\frac{7}{8}$ e meio sangue. A alimentação do gado usado no período da ordenha foi fubá, soja, caroço de algodão e mineral. O volumoso foi pasto brachiaria brizantha e silagem de milho. Abaixo observa-se os volumes de leite produzidos por cada grupo de vacas no leite sem enriquecimento de CLA (Tabela 1), as medidas dos volumes de leite foram realizadas no momento em que o leite chegou no ILCT, foi usado um balde graduado de 20 L (Figura – 5).



Figura 5 – Balde graduado de 20L

Fonte: A autora

Tabela 1 - Volumes de leite produzidos sem enriquecimento de CLA, por cada grupo de vacas.

Repetição	Vacas	Volume (L)
1	115, 231, 244	38
2	257, 268, 217	33
3	7029,155, 149	32

Na coleta do leite com enriquecimento de CLA, procedeu-se da mesma forma que a ordenha do leite sem enriquecimento de CLA. Tomou-se o cuidado de coletar o leite das mesmas vacas, para se trabalhar com dados mais uniformemente possíveis. Para obtenção de aumento do teor de CLA no leite, foram adicionados à alimentação do gado (além da brachiaria brizantha e capim Cameron), 400 mL/vaca/dia de óleo de soja durante 7 dias, portanto, cada vaca consumiu o total de 2,8 litros de óleo de soja durante uma semana, e coletou-se o leite posteriormente. Abaixo observam-se os volumes de leite produzidos por grupo de vacas, após terem sido submetidas à dieta diferenciada. (Tabela 2)

Tabela 2 - Volumes de leite produzidos, enriquecido com CLA de cada grupo de vacas.

Repetição	Vacas	Volume (L)
1	115, 231, 244	37
2	257, 268, 217	30
3	7029,155, 149	37

4.1.2- Amostras de QMP

A divisão das amostras foi realizada de acordo com o enriquecimento ou não de CLA e o tempo de maturação: 20 e 60 dias (Tabela-3).

Tabela 3 - Divisão das amostras de QMP, de acordo com tratamento e maturação.

Lote	Tratamento	Tempo de Maturação
15510507	Enriquecido com CLA	60dias
15510508	Enriquecido com CLA	60dias
15510509	Enriquecido com CLA	60dias
15510510	Não Enriquecido com CLA	60dias
15510511	Não Enriquecido com CLA	60dias
15510512	Não Enriquecido com CLA	60dias
15510513	Enriquecido com CLA	20 dias
15510514	Enriquecido com CLA	20 dias
15510515	Enriquecido com CLA	20 dias
15510516	Não Enriquecido com CLA	20 dias
15510517	Não Enriquecido com CLA	20 dias
15510518	Não Enriquecido com CLA	20 dias

4.1.3- Padronização do leite para fabricação dos queijos Minas padrão

A padronização foi realizada no Instituto de Laticínios Cândido Tostes.

Foi realizada análise de teor de gordura pelo método de Gerber, seguindo os parâmetros da Instrução Normativa nº68 para padronizar os queijos para posterior fabricação dos queijos. (BRASIL, 2006)

No tratamento sem CLA, o leite da repetição 1 não necessitou padronização, devido ao baixo teor de gordura, 2,9% (m/v), aquém do teor requerido (3,2%), o da repetição 2, apresentou teor de gordura de 4% (m/v), assim, usaram as proporções de 24 L do leite integral e 6 L do mesmo lote do leite desnatado (0% de gordura) , para a devida padronização. O leite da repetição 3 apresentou teor de gordura de 5,2% (m/v), necessitando ser padronizado, por meio da proporção de 19,7 L de leite integral e 12,3 L de leite desnatado, também do mesmo lote.

Já no tratamento com CLA, os leite das repetições 1 e 3 apresentaram teor de gordura de 3,2% (m/v), não sendo necessárias padronizações, enquanto o da repetição 2 apresentou 4,0% (m/v) teor de gordura, sendo empregado 21,6 L do leite integral para 5,4 L do leite desnatado (0% de gordura) desse mesmo lote.

4.1.4- Pasteurização do leite com e sem tratamento

Depois de filtrados e padronizados, os leites enriquecidos e não enriquecidos com CLA, foram aquecidos a 65°C por 30min (separadamente), e posteriormente resfriados a 34°C, para início do processo de fabricação dos queijos Minas padrão.

4.1.5- Fabricação do QMP nos tratamentos com e sem enriquecimento de CLA

Os QMP foram fabricados no Instituto de Laticínios Cândido Tostes, segundo a tecnologia descrita pelo ILCT EPAMIG (Ferreira, 2005).

O fermento utilizado foi o liofilizado mesofílico tipo O, Chr. Hansen R704, *Lactococcus lactis subsp. Lactis* e *Lactococcus lactis subsp. Cremoris*, foi usado 0,5% do volume total de leite de acordo com cada repetição (Tabela 4).

Tabela 4 - Adição de 0,5% de Fermento no leite para fabricação de queijo Minas padrão.

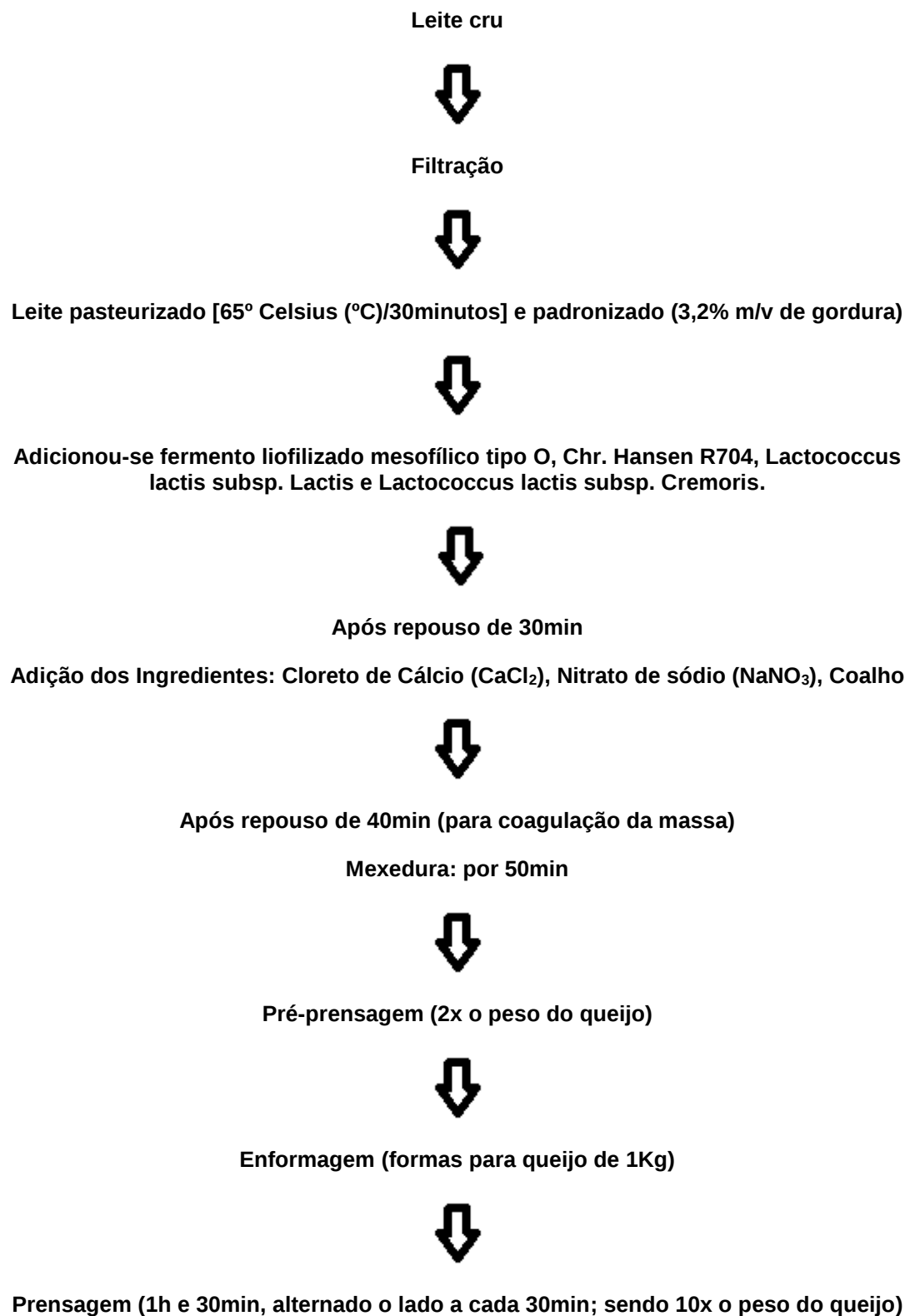
Repetição	Volume (L)	Fermento (g)
1	38	0,19
2	33	0,16
3	32	0,15

Após repouso de 30 minutos, tempo necessário para fermentação, adicionaram-se os demais ingredientes tecnológicos (tabela 4) e após 40 minutos de repouso, imediatamente antes do corte da coalhada, retirou-se amostra do soro para análise de teores de gordura e acidez titulável, para verificação do controle do processo de fabricação dos queijos. Após a mexedura, por aproximadamente 50 minutos, foram dados os pontos das massas e os queijos foram colocados nas formas, permanecendo sob prensagem (10x o peso do queijo), por 1h e 30 min, alternando o lado a cada 30 min.

Tabela 4 – Adição de ingredientes tecnológicos na produção dos QMP experimentais.

Tratamentos	Repetições	CaCl ₂ 40% m/v	NaNO ₃ 50% m/v	Coalho
Não enriquecido com CLA	1	19 mL	19 mL	4,0 mL
	2	16 mL	16 mL	3,1 mL
	3	15 mL	15 mL	3,0 mL
Enriquecido com CLA	1	18 mL	18 mL	4,0 mL
	2	15 mL	15 mL	3,0 mL
	3	18 mL	18 mL	4,0 mL

Seguindo a tecnologia do ILCT, observa-se abaixo uma representação simples da fabricação do QMP (Ferreira, 2005). (Figura 5)



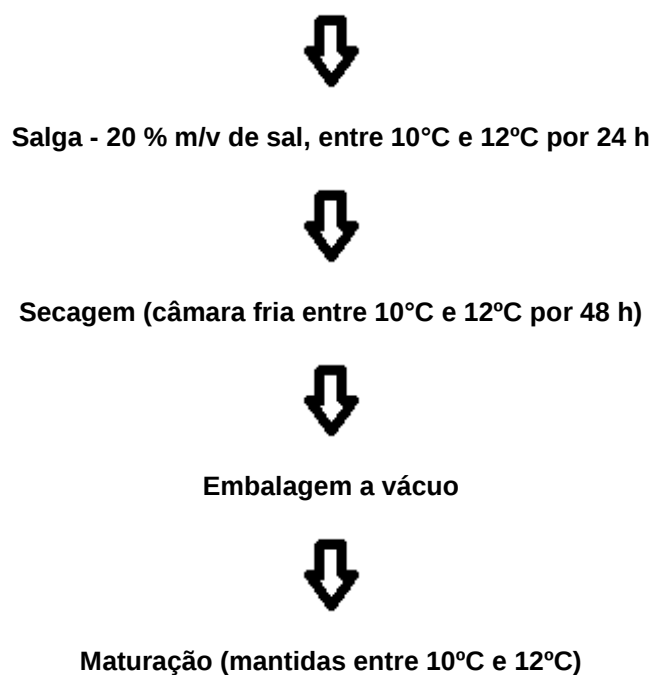


Figura 6 – Fluxograma das fabricações dos QMP experimentais.

4.1.6 – Reagentes e Solventes Utilizados

- * Água deionizada;
- * Ácido oxálico, Sigma Aldrich, 98%, CAS 144-62-7;
- * Acetato de metila (metil acetato), Merk, 99%, CAS 79-20-9;
- * Éter etílico (éter dietílico), Merk, 99,5%, CAS 60-29-7;
- * Hidróxido de amônio 25% em água, Vetec, CAS 1136-21-6;
- * Metanol anidro GRAU HPLC, Sigma Aldrich, $\geq 99\%$, CAS 67-56-1;
- * Metóxido de sódio 30% em metanol, Fluka, CAS 124-41-4;
- * Padrão metil éster do CLA sintético, LUTA-CLA 60%, BASF;
- * Padrão metil éster do CLA 18:1 trans 11, (vacênico), Supelco, 46905-U;
- * Padrão metil éster do ácido linolênico Supelco, 47792;
- * Padrão metil éster do ácido linolênico Supelco, 47791;

* Padrão metil éster do ácido cis- 5,8,11,14,17 eicosapentanóico, Supelco, 47571-U;

* Padrão FAME Mix-37, Sigma Aldrich, 47885-U;

* Sulfato de sódio (Na_2SO_4) MERK, CAS 7757-82-6;

4.1.7 – Equipamentos

* Centrífuga Sorvall RC 5B Du Pont;

* Vortex Mix, Vixar 60HZ;

*Estufa TE394/2 Tecnal;

4.1.8 - Preparo da Solução de Metilação

Para o preparo da solução de metilação, foram adicionados em balão volumétrico, capacidade de 2 mL, 0,875 mL de metanol anidro, 0,20 mL de metóxido de sódio (30% em metanol) (Tabela 5).

Tabela 5 – Preparo da solução de metilação

Reagente	50 amostras	25 amostras	20 amostras	10 amostras
Metanol	1,75 mL	0,875 mL	0,70 mL	0,35mL
Metóxido de sódio	0,40 mL	0,20 mL	0,16 mL	0,08 mL
Total:	2,15 mL	1,075 mL	0,860 mL	0,420 mL

Foram preparados soluções para 25 amostras (Figura 6).

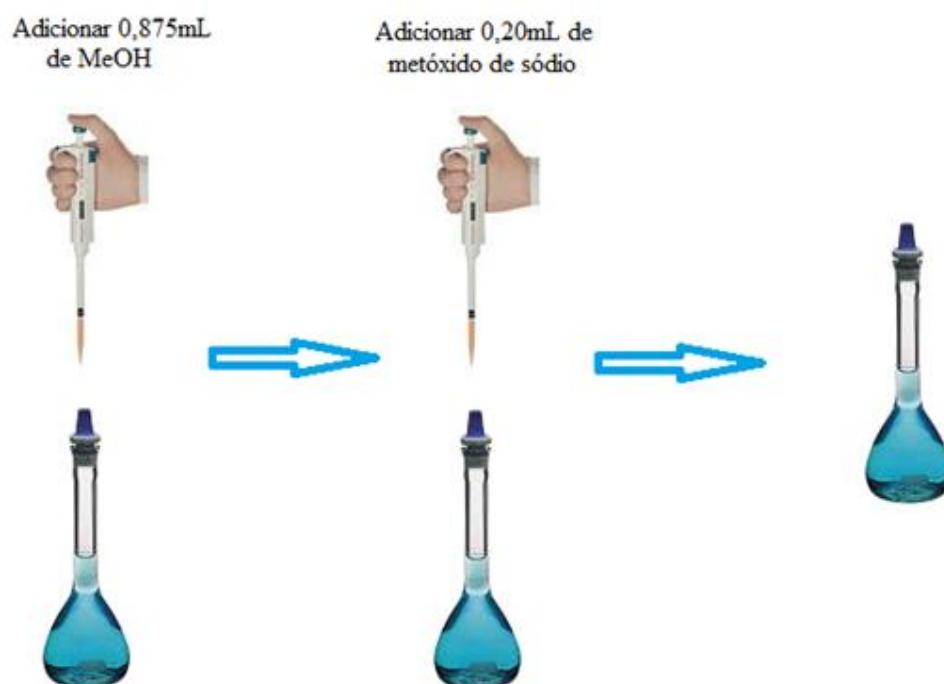


Figura 7 - Preparo da solução de metilação:

Fonte: A AUTORA.

4.1.9 – Preparo da Solução de Terminação

Para o preparo da solução de terminação, pesou-se 1g de ácido oxálico, transferiu-se para estufa a 105°C por 30 minutos, deixou-se secar no dessecador para evitar que absorvesse umidade, adicionou-se 30 mL de éter etílico e transferiu-se para um frasco de plástico (Figura 7).



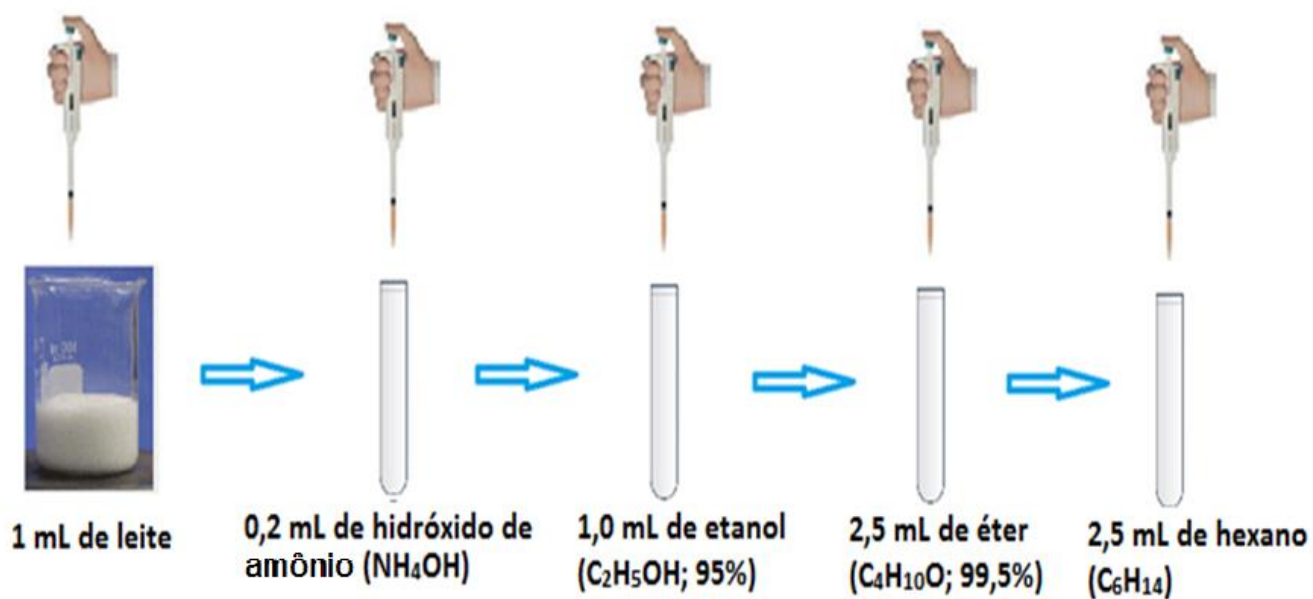
Figura 8 – Preparo da solução de terminação.

Fonte: A AUTORA.

4.2 - Procedimento de extração lipídica do Leite

A extração Lipídica do leite seguiu a metodologia de Roesse-Gottlieb AOAC, 1990.

Pipetou-se 1mL de leite e transferiu-se para um tubo de ensaio, a esse mesmo tubo foi adicionado: 0,2mL de hidróxido de amônio (NH_4OH ; 25%), 1,0mL de etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$; 95%), 2,5mL de éter dietílico ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$; 99,5%), 2,5mL de Hexano (C_6H_{14}), para cada substância adicionada levou-se a agitação no vórtex por 1 minuto, centrifugou-se por 5 minutos a 3000 rpm, e concentrou a solução usando ar comprimido (N_2) por 10 minutos, sendo realizados os procedimentos para todas as amostras (Figura 8).



Agitamos no vortex, por 1 min após a adição de cada substância



Centrifugou-se por 5min a 3000 rpm.



Concentrou-se por 10min

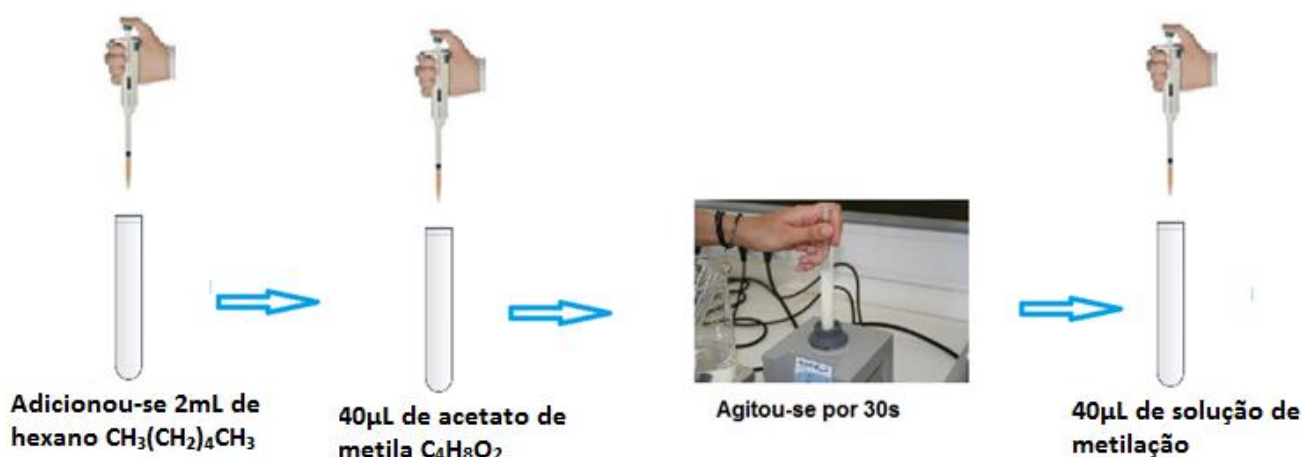
Figura 9 - Extração lipídica

Fonte: A AUTORA.

4.2.1 -Transesterificação lipídica no leite

A transesterificação Lipídica do leite seguiu a metodologia de Roesse-Gottlieb AOAC, 1990.

No processo de transesterificação adicionou-se a cada tubo de ensaio contendo as amostras: 2 mL de hexano e 40 µL de acetato de metila. Tampou-se e agitou-se por 30 segundos com emprego de vortex, adicionou-se mais 40 µL da solução de metilação, e, novamente agitou-se por mais 1 min no vortex. Ficou em descanso por 10 minutos, adicionou-se 60 µL da solução de terminação, agitou-se por mais 30 segundos também no vortex, adicionou-se 0,5g de sulfato de sódio e ficou em descanso por 1h. Centrifugou-se para melhor separação de fases por 5 minutos a 3200 rpm, transferiu-se a fase orgânica para os vials, para posterior injeção no cromatógrafo (Figura 9).



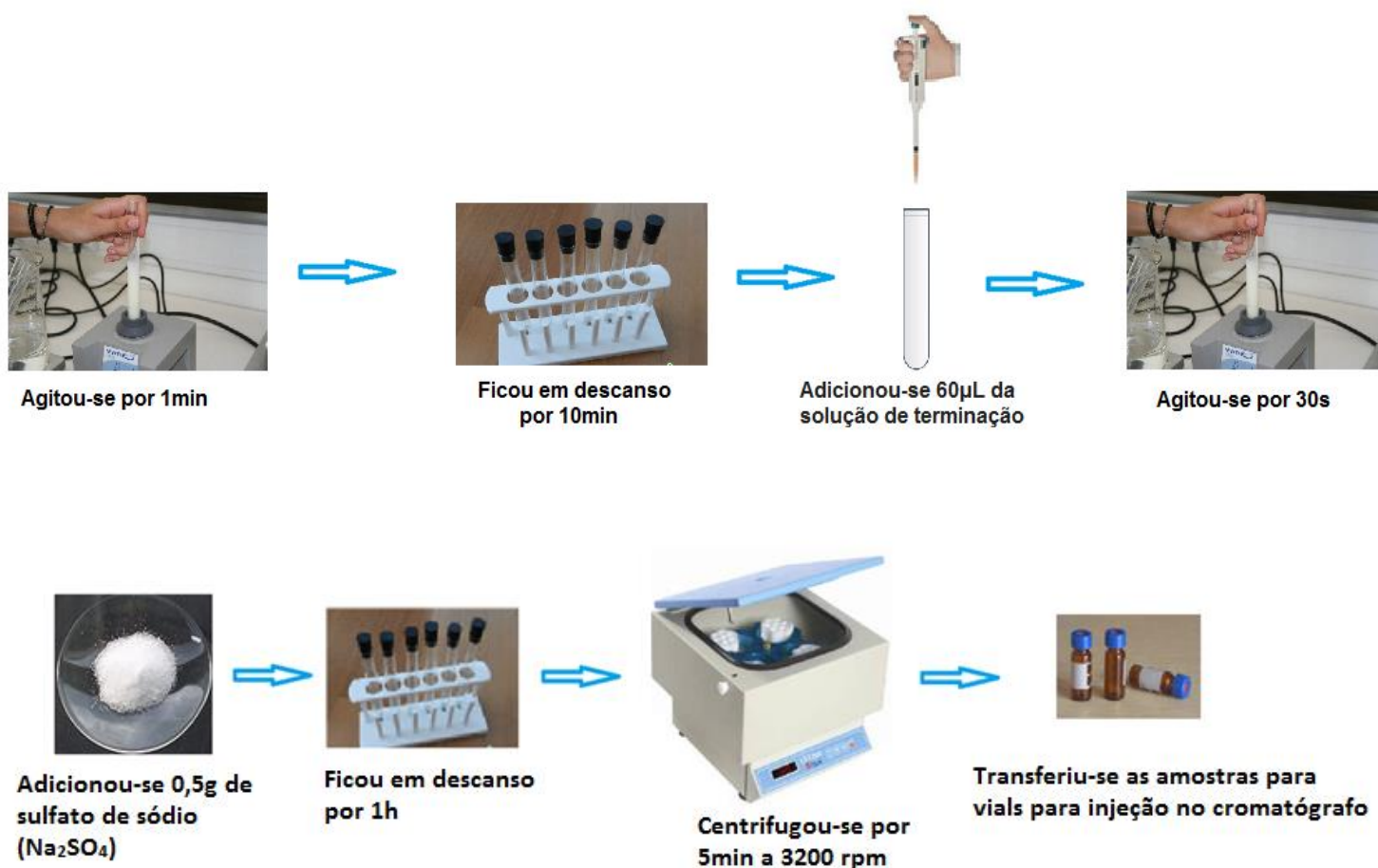


Figura 10 - Transesterificação no leite

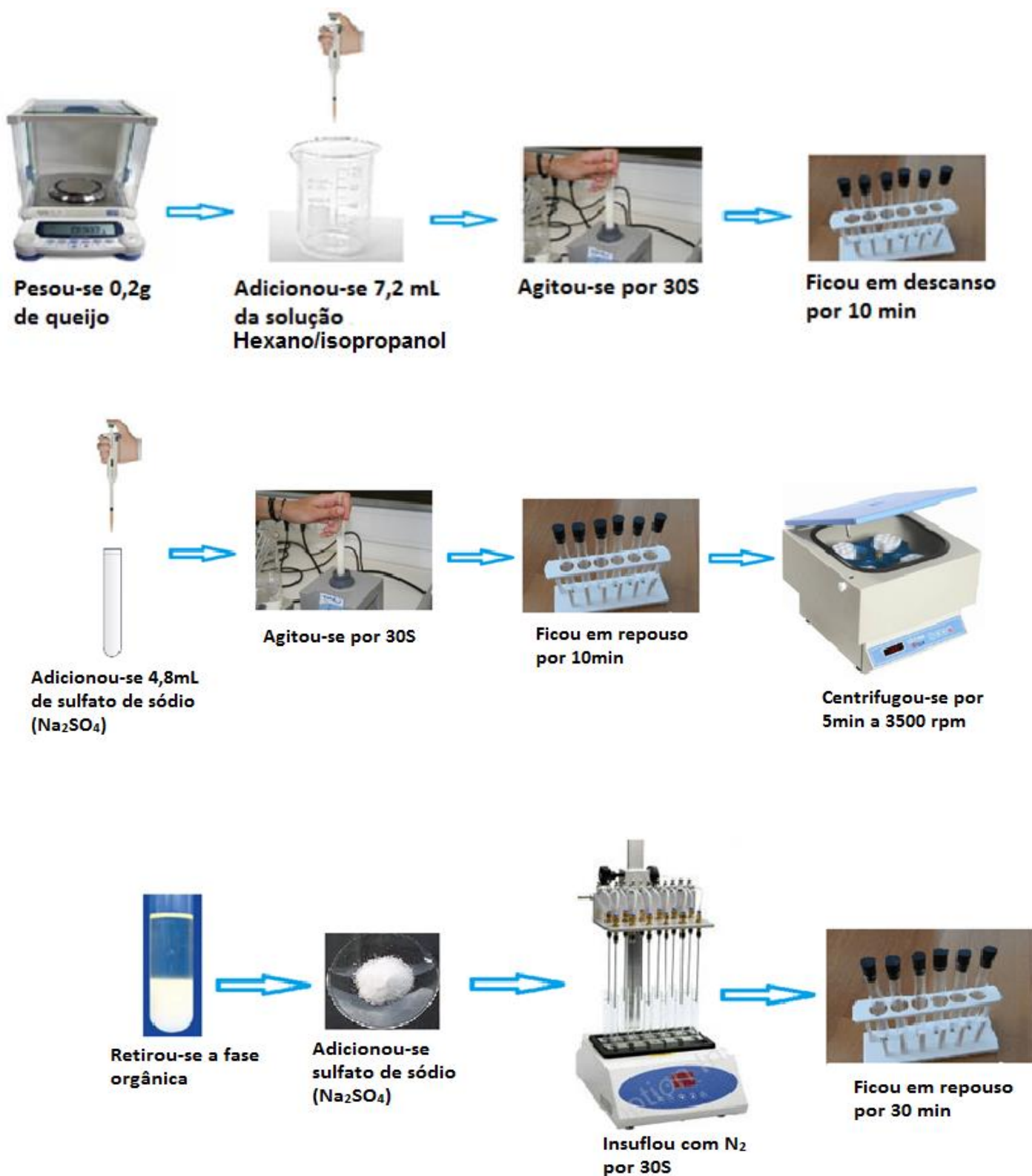
Fonte: A AUTORA.

4.2.2 - Procedimento de extração lipídica no queijo

O método de extração lipídica do leite se baseia no método da AOAC (Association of Official Analytical Chemists) com adaptação (substituição do éter de petróleo por hexano).

Para a extração lipídica no QMP, pesou-se 0,2 g de cada queijo experimental, adicionou-se 7,2 mL da solução de hexano/isopropanol (3:2), agitou-se no vortex por 30 s e deixou em descanso por 10 min; adicionou-se 4,8 mL de sulfato de sódio (1g/15 mL H_2O), agitou-se por 30s, permanecendo em repouso 10min; centrifugou-se por 5 min a 3500 rpm, retirou-se a fase orgânica, adicionou sulfato de sódio, insuflou com $\text{N}_2(\text{g})$ por 30s e ficou em

repouso por 30 min, centrifugou-se a 5 min por 3200 rpm, transferiu-se a fase orgânica para posterior metilação e evaporou-se o $N_2(g)$, (Figura 10).



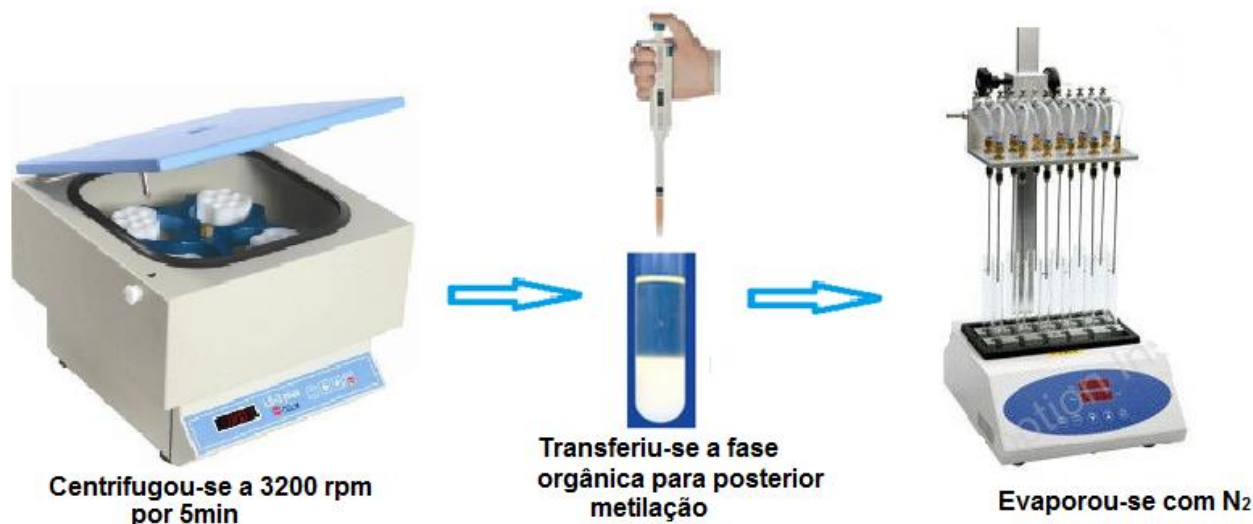


Figura 11 - Extração lipídica no QMP

Fonte: A AUTORA.

4.2.3 – Transesterificação lipídica no queijo

O método de extração lipídica do leite se baseia no método da AOAC (Association of Official Analytical Chemists) com adaptação (substituição do éter de petróleo por hexano).

Para a transesterificação lipídica do QMP adicionou-se: 2 mL de Hexano, 40 µL de acetato de metila, agitou-se no vortex por 30 s, adicionou-se 40 µL da solução de metilação, agitou-se novamente mais 1 min no vortex e deixou-se em descanso por 10 min, adicionou-se 60 µL da solução de terminação, agitou-se por 30 s, adicionou 200 mg de cloreto de cálcio, descansou por 1h, centrifugou-se por 5 min a 3200 rpm e transferiu-se a fase orgânica para posterior injeção no cromatógrafo (Figura 12).

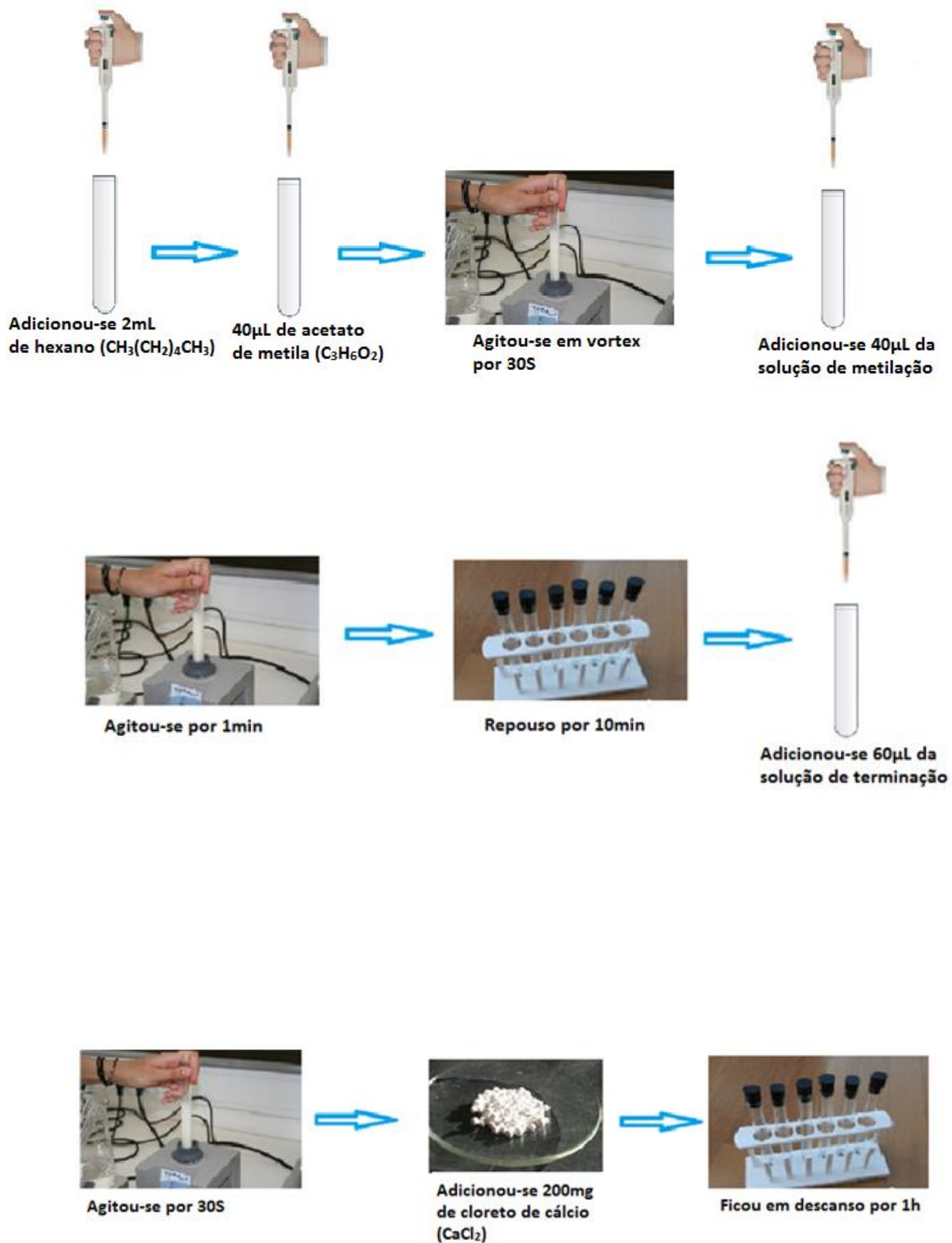




Figura 12- Transesterificação lipídica no QMP

Fonte: A AUTORA.

4.2.4 - Instrumentação

A coluna usada foi de cianopropil + silicone, CPSIL 88 (100m x 0,25 mm x 0,2 μ m) e as temperaturas do injetor e detector foram de 250°C. O gás de arraste usado foi de hidrogênio, em vazão de 1,0mL/min.

- Split 1:50
- Ramping: Temperatura do forno inicial 45°C (4min).
- Primeira rampa de aquecimento: 45°C a 175°C a 13°C/min, (27min a 175°C)
- Segunda rampa de aquecimento: 175°C a 215°C a 4°C/min, (35min a 215°C).
- Fluxo H₂ FID 35mL/min
- Fluxo Ar FID 286mL/min
- Fluxo N₂ make up 30mL/min
- Volume de injeção: 1 μ L.

O detector usado foi FID (detector de ionização de chama), no qual os ésteres de AG ao serem pirolisados produzem íons e elétrons capazes de conduzir eletricidade, a qual é amplificada, convertida e registrada.

A rampa de aquecimento, evita a degradação dos constituintes da amostra e promove uma melhor separação dos constituintes (Figura 13).

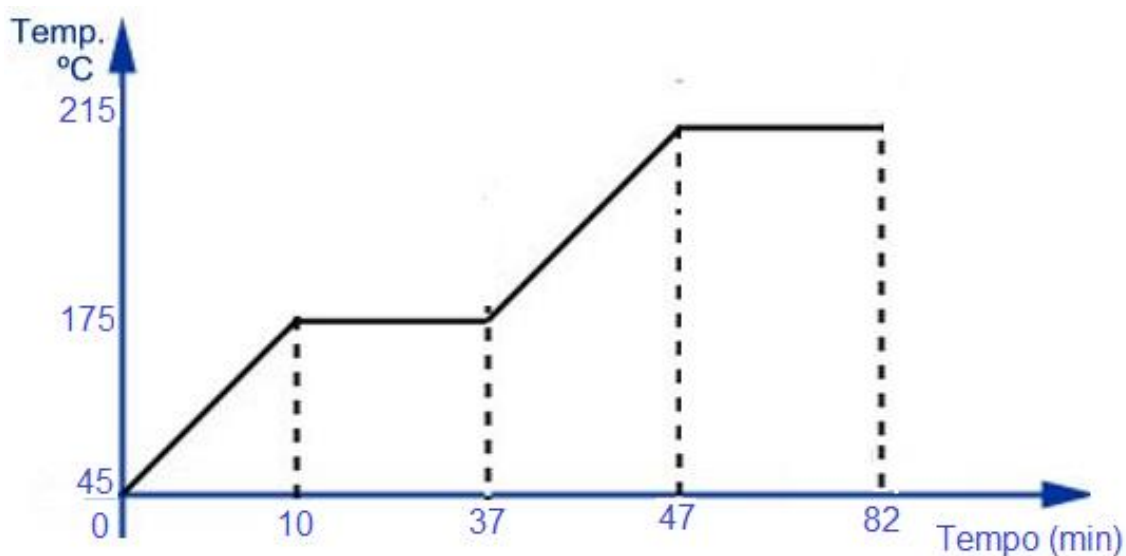


Figura 13 – Representação esquemática da rampa de aquecimento no CG.

4.2.5 – Análise sensorial dos QMP experimentais

Realizou-se análise sensorial dos QMP aos 20 dias de maturação, por comparação pareada com 60 provadores não treinados/tratamento/repetição. A análise foi realizada no refeitório do ILCT/EPAMIG. As duas amostras codificadas, com enriquecimento de CLA e sem enriquecimento de CLA foram apresentadas simultaneamente, cabendo cada julgador indicar a amostra preferida, codificadas com três dígitos aleatórios (Figura 14).

COMPARAÇÃO

PAREADA

(Preferência)

Por favor, deguste a amostra da direita primeiro.

Escolha o código da amostra de sua preferência.

341	284

Figura 14 - Modelo de ficha para análise sensorial por comparação pareada (preferência) com os QMP com e sem enriquecimento de CLA.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 - Teor de CLA

Os ácidos graxos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção do padrão FAME-mix e demais padrões comerciais, foram obtidos 62 picos identificados.

Observa-se aumento nos teores do Cis-9 trans-11 e de seu precursor C18:1 Trans-11, conforme confirmado pelo box plot, na caixa temos o intervalo que corresponde os 50% dos dados (entre Q1 e Q3), as linhas abaixo e acima da mediana nos mostra que houve variação positiva do teor de Cis-9 trans-11 e seu precursor C18:1 trans-11 (Figura -15). Estes resultados indicam, que o tratamento com enriquecimento de CLA na dieta das vacas apresentaram positivos e coerentes com o esperado, ao ser adicionado na alimentação do gado (pasto brachiaria brizantha e capim Cameron) o óleo de soja (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultados de C18:1 trans11 e Cis-9 trans -11 (CLA) nas amostras de leite.

Controle	Repetições	Tratamento	C18:1t-11*	Cis-9 t-11*
15510246	2	Sem enriquecimento de CLA	1,169	0,607
15510247	3	Sem enriquecimento de CLA	1,014	0,552
15510248	1	Com enriquecimento de CLA	2,317	0,956
15510249	2	Com enriquecimento de CLA	2,263	0,916
15510250	3	Com enriquecimento de CLA	2,917	1,415

(*g/100g de ácidos graxos totais)

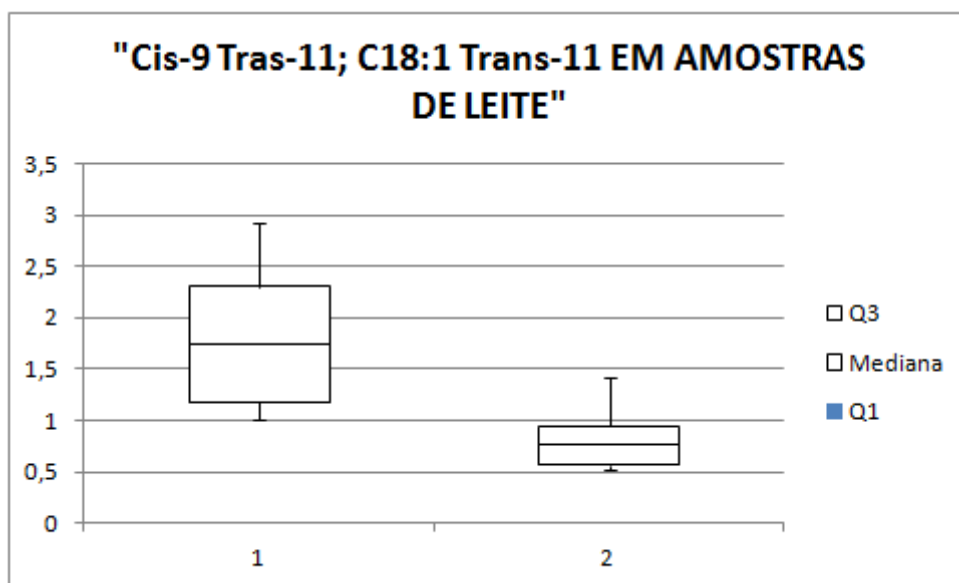


Figura 15 – Representação gráfica box plot do cis-9 trans-11; C18:1 trans-11 em amostras de leite.

Ao analisarmos os cromatogramas das amostras de leite com e sem enriquecimento de CLA, notamos uma alteração visível no tamanho do pico de C18:1 Trans-11 e Cis-9 Trans-11, confirmando que foi possível através da dieta oferecida ao gado obter um leite com maior teor de CLA (Figura -16 e Figura -17).

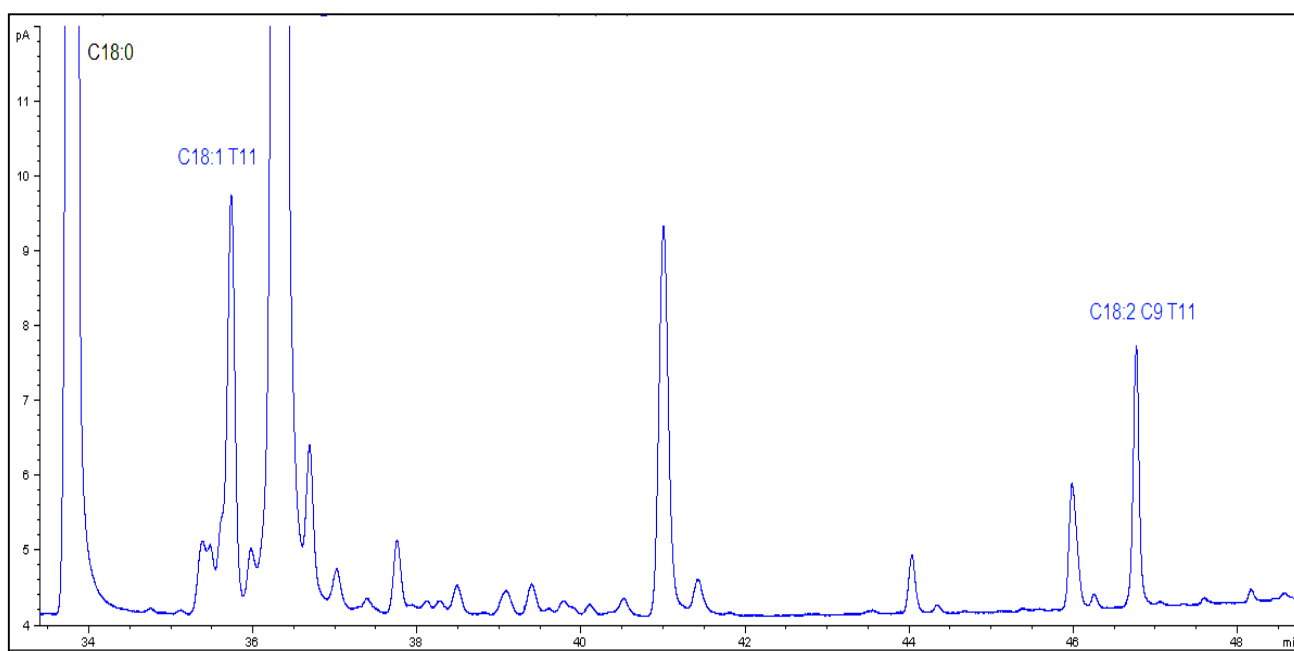


Figura 16 - Cromatograma das amostras de leite sem enriquecimento de CLA.

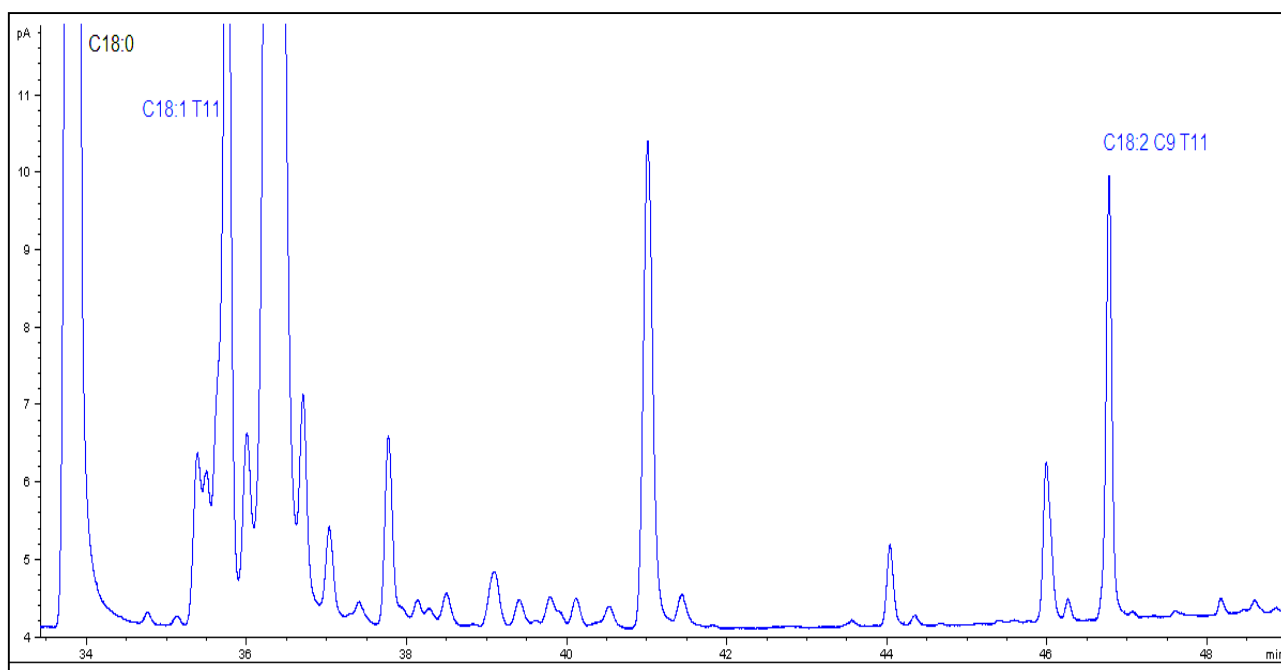


Figura 17 - Cromatograma das amostras de leite com enriquecimento de CLA.

Observa-se que o teor de ácidos graxos de interesse (CLA) manteve-se constantes após a fabricação do QMP para 20 dias de maturação (Tabela 7).

Análise do Box plot

Tabela 7 – Resultados de C18:1t-11 e Cis-9 t-11 em amostras do QMP.

Controle	Repetições	Tratamento	C18:1t-11*	Cis-9 t-11*
15510513	1	Com enriquecimento de CLA	2,467	0,939
15510514	2	Com enriquecimento de CLA	2,402	0,967
15510515	3	Com enriquecimento de CLA	3,016	1,414

(*g/100g de ácidos graxos totais)

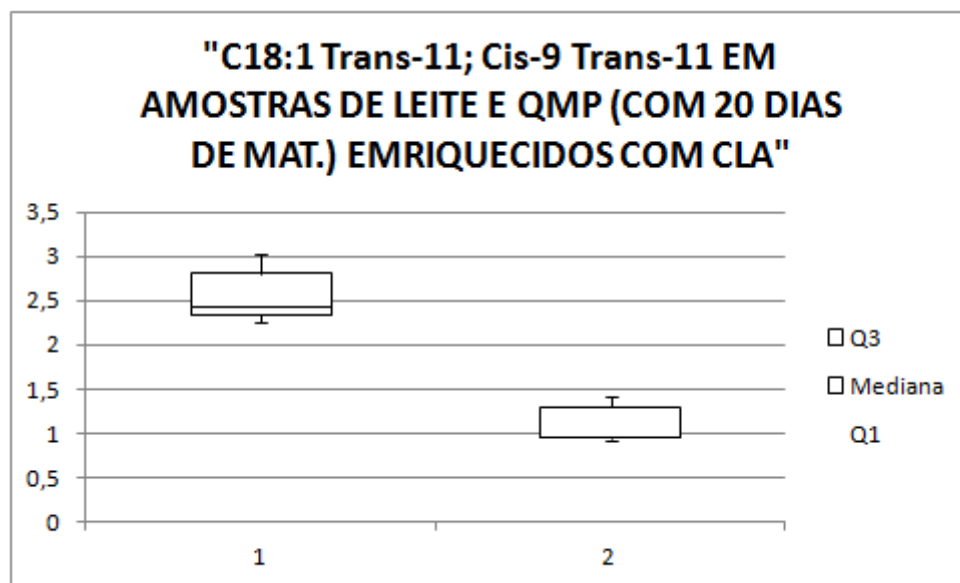


Figura 18 – Representação gráfica box plot do cis-9 trans-11; C18:1 trans-11 em amostras de leite e de QMP Enriquecidas com CLA.

Observa-se redução de ácidos graxos saturados de cadeia média (C12:0, C16:0, C14:0) (tabela 8), e isso de certa forma é algo desejável, já que os ácidos graxos saturados do leite são os responsáveis pelas críticas que o leite e seus derivados recebem, sendo lhes atribuída a capacidade de elevar o colesterol plasmático associados as lipoproteínas de baixa densidade (LDL).

Analise do Box plot

Tabela 8 - Resultados de C12:0, C16:0 Iso, C14:0 nas amostras de QMP.

Controle	Repetições	Tratamento	C12:0*	C16:0 so*	C14:0*
15510513	1	Com enriquecimento de CLA	2,045	0,214	7,757
15510514	2	Com enriquecimento de CLA	1,708	0,235	7,142
15510515	3	Com enriquecimento de CLA	1,857	0,218	7,222
15510516	1	Sem enriquecimento de CLA	3,534	0,234	11,478
15510517	2	Sem enriquecimento de CLA	3,576	0,218	11,787
15510518	3	Sem enriquecimento de CLA	4,226	0,212	11,800

(*g/100g de ácidos graxos totais)

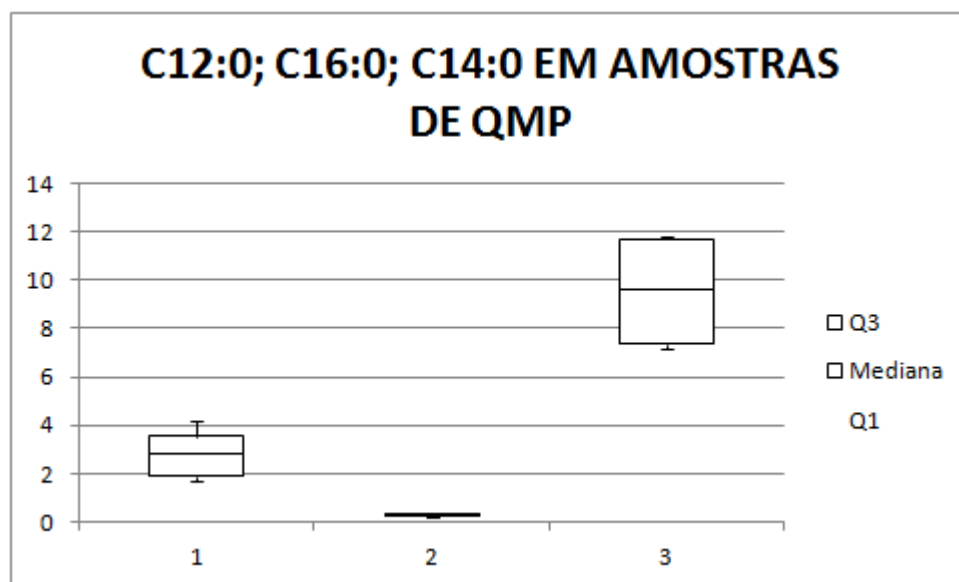


Figura 19 – Representação gráfica box plot do C12:0; C16:0; C14:0 em amostras de QMP (Com 20 dias de maturação).

Observar-se também, aumento de CLA Cis-9 trans-11 e do seu precursor C18:1 trans-11 nas amostras de QMP enriquecido com CLA (Tabela

9), podemos confirmar esse aumento com a análise do box plot, que apresenta diferença considerável entre o primeiro e o terceiro quartil (Figura - 20).

Tabela 9 – Resultados de CLA Cis-9 t-11, e C18:1 t-11 nas amostras de QMP(20dias de maturação).

Controle	Repetições	Tratamento	Cis-9 t-11*	C18:1t-11*
15510513	1	Com enriquecimento de CLA	0,939	2,467
15510514	2	Com enriquecimento de CLA	0,967	2,402
15510515	3	Com enriquecimento de CLA	1,414	3,016
15510516	1	Sem enriquecimento de CLA	0,528	1,221
15510517	2	Sem enriquecimento de CLA	0,589	1,216
15510518	3	Sem enriquecimento de CLA	0,572	1,072

(*g/100g de ácidos graxos totais)

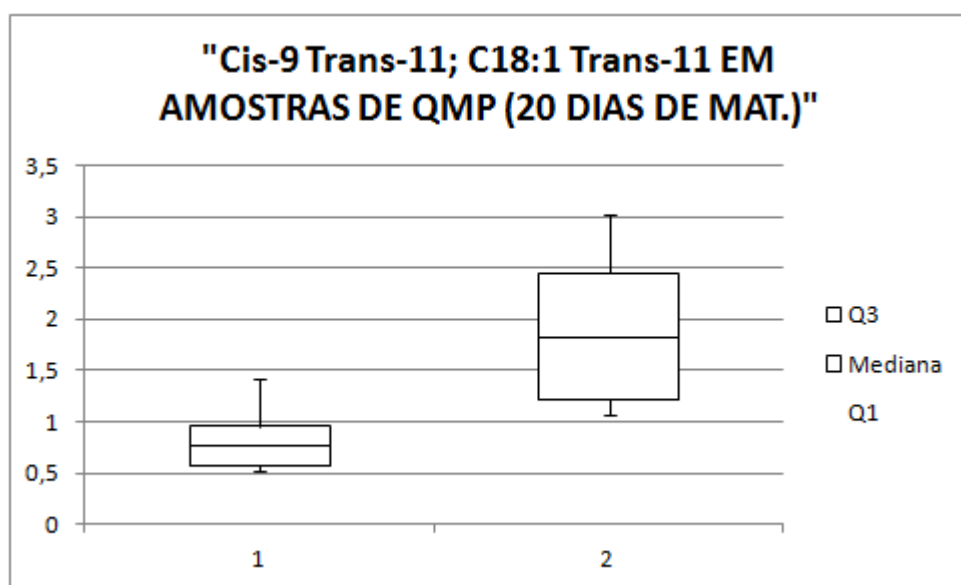


Figura 20 – Representação gráfica box plot do Cis-9 tran-11; C18:1 trans-11 em amostras de QMP (Com 20 dias de maturação).

Paralelamente e também importante, observar a queda de ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificadas como o C15:0 normal iso (Tabela 10), confirmado pela análise do box plot, no qual observamos uma diferença entre o primeiro e o terceiro quartil (Figura - 21).

Tabela 10 - Resultados de C15:0 Iso, e C15;0 em amostras de QMP.

Controle	Repetições	Tratamento	C15:0 Iso*	C15:0*
15510513	1	Com enriquecimento de CLA	0,281	0,574
15510514	2	Com enriquecimento de CLA	0,291	0,556
15510515	3	Com enriquecimento de CLA	0,209	0,484
15510516	1	Sem enriquecimento de CLA	0,295	0,546
15510517	2	Sem enriquecimento de CLA	0,311	0,604
15510518	3	Sem enriquecimento de CLA	0,256	0,552

(*g/100g de ácidos graxos totais)

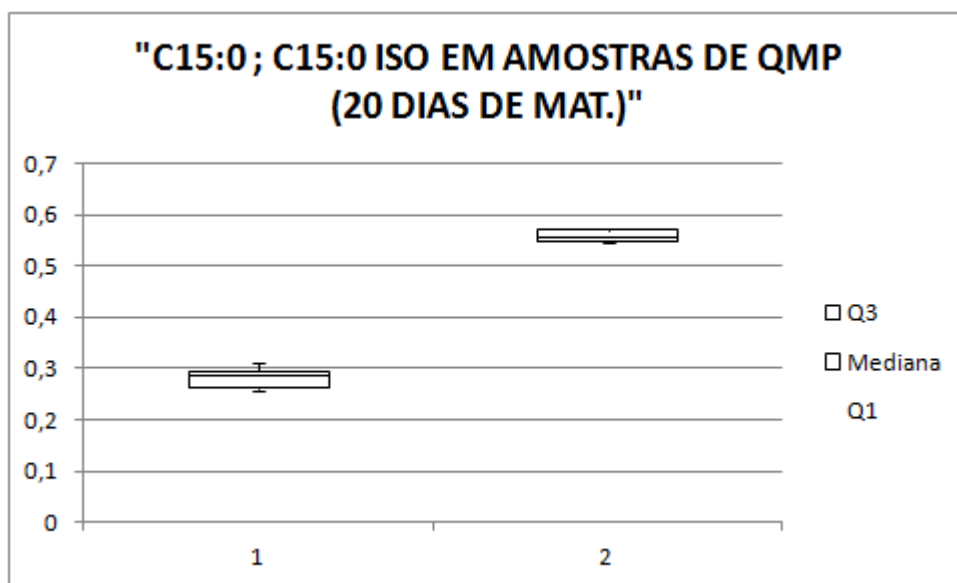


Figura 21 – Representação gráfica box plot do C15:0; C15:0 ISO em amostras de QMP (Com 20 dias de maturação).

Um efeito indesejável foi o aumento dos isômeros C18:0 (ácido esteárico), confirmado estatisticamente pela análise do box plot, que apresentou variação entre o primeiro e o terceiro quartil, com o aumento desse isômero indica que nem todo C18:1 trans-11 (ácido vacênico) foi transformado em cis-9 trans-11 (CLA), que é o nosso isômero biologicamente ativo de interesse, no rúmen ocorre a bio-hidrogenação (Figura-13), observa-se esse efeito indesejável na segunda redução da bio-hidrogenação. (Tabela 11)

Tabela 11 - Resultados de C18:1 t-11, e C18:0 em amostras de QMP (20 dias de maturação).

Controle	Repetições	Tratamento	C18:1 t-11*	C18:0*
15510513	1	Com enriquecimento de CLA	2,467	17,242
15510514	2	Com enriquecimento de CLA	2,402	16,864
15510515	3	Com enriquecimento de CLA	3,016	14,409
15510516	1	Sem enriquecimento de CLA	1,221	11,231
15510517	2	Sem enriquecimento de CLA	1,216	11,746
15510518	3	Sem enriquecimento de CLA	1,072	9,232

(*g/100g de ácidos graxos totais)

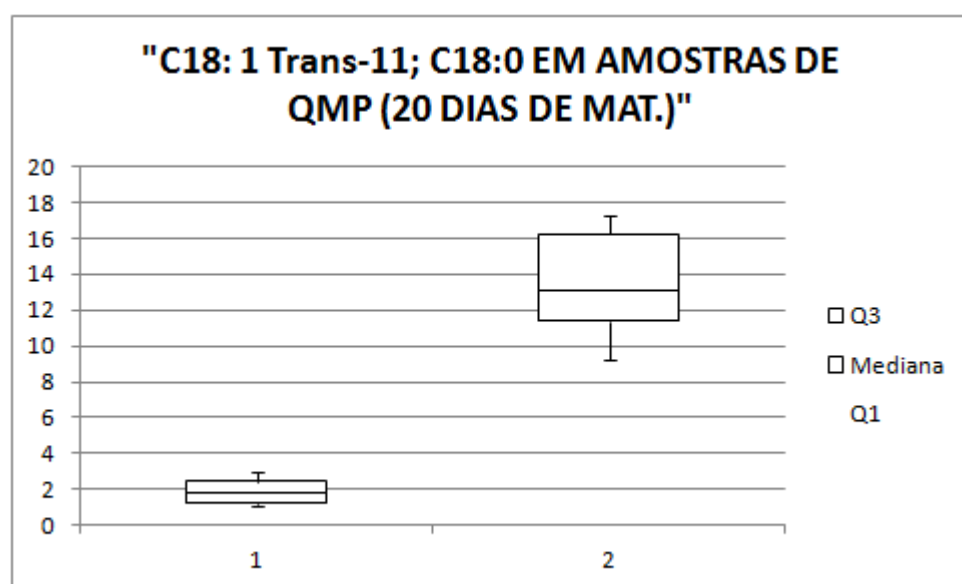


Figura 22 – Representação gráfica box plot do C18:1; C18:0 em amostras de QMP (Com 20 dias de maturação).

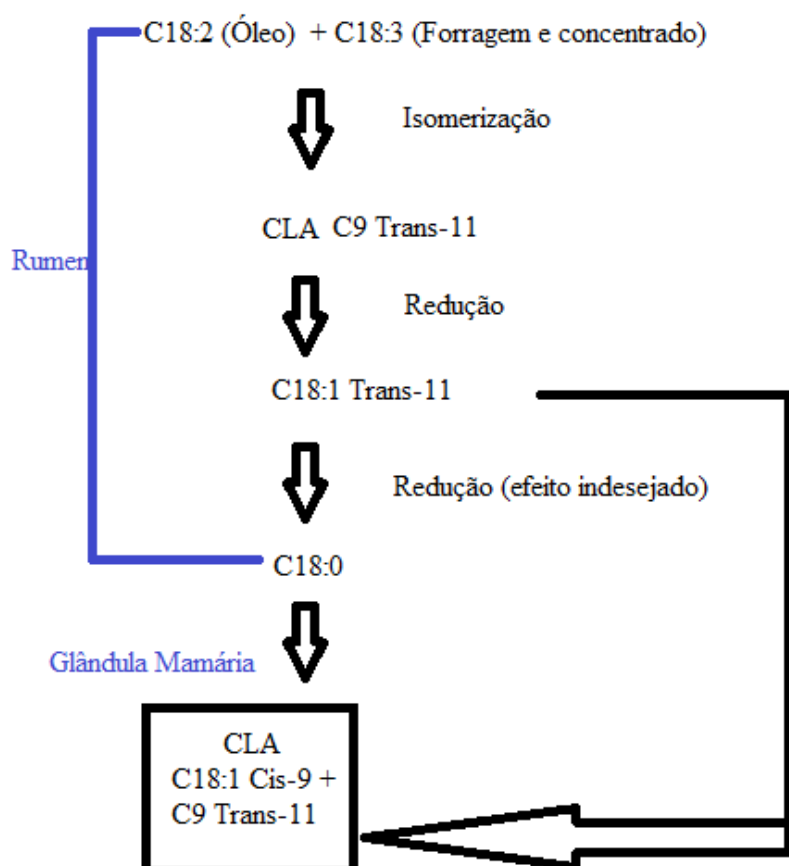


Figura 23 - Representação esquemática da bio-hidrogenação no rúmen.

Palmquist et al. (2005) revelaram que o tipo de dieta consumida pelos animais parece ser melhor que a quantidade oferecida, sendo o fator principal no processo da biohidrogenação, pois as mudanças na dieta produzidas por indução na alimentação podem alterar o caminho da biohidrogenação.

Outros meios aos quais os fatores dietéticos e nutritivos possam aumentar o índice de ácidos graxos insaturados e CLA da gordura de leite são pela inibição da etapa terminal da biohidrogenação (Figura 23). Isto ocorre tipicamente através de mudanças diretas ou indiretas no ambiente do rúmen, o resultado líquido é um acúmulo de ácido vacênico que, desse modo aumenta o fluido ruminal deste precursor para a síntese endógena de CLA. Um número limitado da espécie bacteriana tem sido mostrado como responsáveis pela realização da etapa final da biohidrogenação e, presumidamente, as mudanças na fase final da biohidrogenação no ambiente ruminal conduz a uma redução nestas espécies e/ou a uma redução em sua capacidade reduzir o ácido vacênico ao ácido esteárico (Jenkins et al., 2008).

Segundo Griinari et al. (2000), desejando-se elevar a concentração de CLA na gordura do leite, deve-se prover o rúmen de substratos com 13 ácidos graxos polinsaturados, como o ácido linoléico, objetivando alcançar a produção máxima não só de CLA, mas também de precursores como o ácido trans-vacênico.

5.1.1 – Efeitos da Maturação

Em diferentes estágios de maturação do queijo Minas Padrão, observa-se que o teor de CLA se manteve constante, e isso é interessante, pois esse processo não influenciou no teor de CLA, portanto a shelf-life dos queijos enriquecidos com CLA não ficará comprometida (Tabela 12). **Análise do Box plot**

Tabela 12 - Resultados do C18:1 t-11, C18:2 Cis-9 e Cis-9 t-11(CLA) em diferentes estágios de maturação.

Repetições	Maturação	Tratamento	C18:1t-11*	C18:2Cis9*	Cis9t-11*
1	60 dias	Com enriquecimento de CLA	2,341	0,048	0,919
2	60 dias	Com enriquecimento de CLA	2,352	0,025	0,964
3	60 dias	Com enriquecimento de CLA	3,012	0,043	1,413
1	60 dias	Sem enriquecimento de CLA	1,272	0,015	0,522
2	60 dias	Sem enriquecimento de CLA	1,207	0,014	0,584
3	60 dias	Sem enriquecimento de CLA	1,028	0,018	0,551
1	20 dias	Com enriquecimento de CLA	2,467	0,044	0,939
2	20 dias	Com enriquecimento de CLA	2,402	0,041	0,967
3	20 dias	Com enriquecimento de CLA	3,016	0,043	1,414
1	20 dias	Sem enriquecimento de CLA	1,221	0,013	0,528
2	20 dias	Sem enriquecimento de CLA	1,216	0,018	0,589
3	20 dias	Sem enriquecimento de CLA	1,072	0,017	0,572

(*g/100g de ácidos graxos totais)

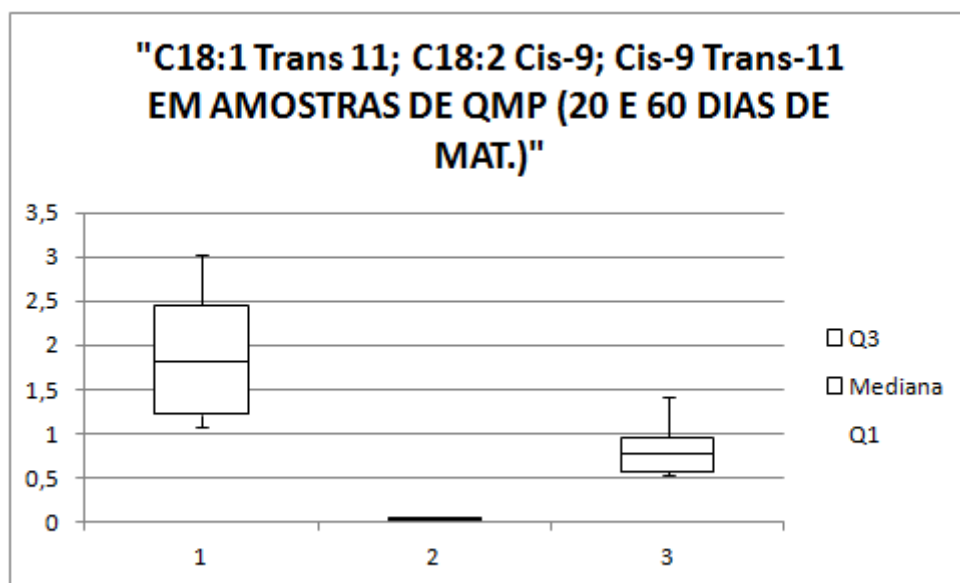


Figura 24 – Representação gráfica box plot do C18:1 trans-11; C18:2 cis-9; cis-9 trans-11 em amostras de QMP (Com 20 e 60 dias de maturação).

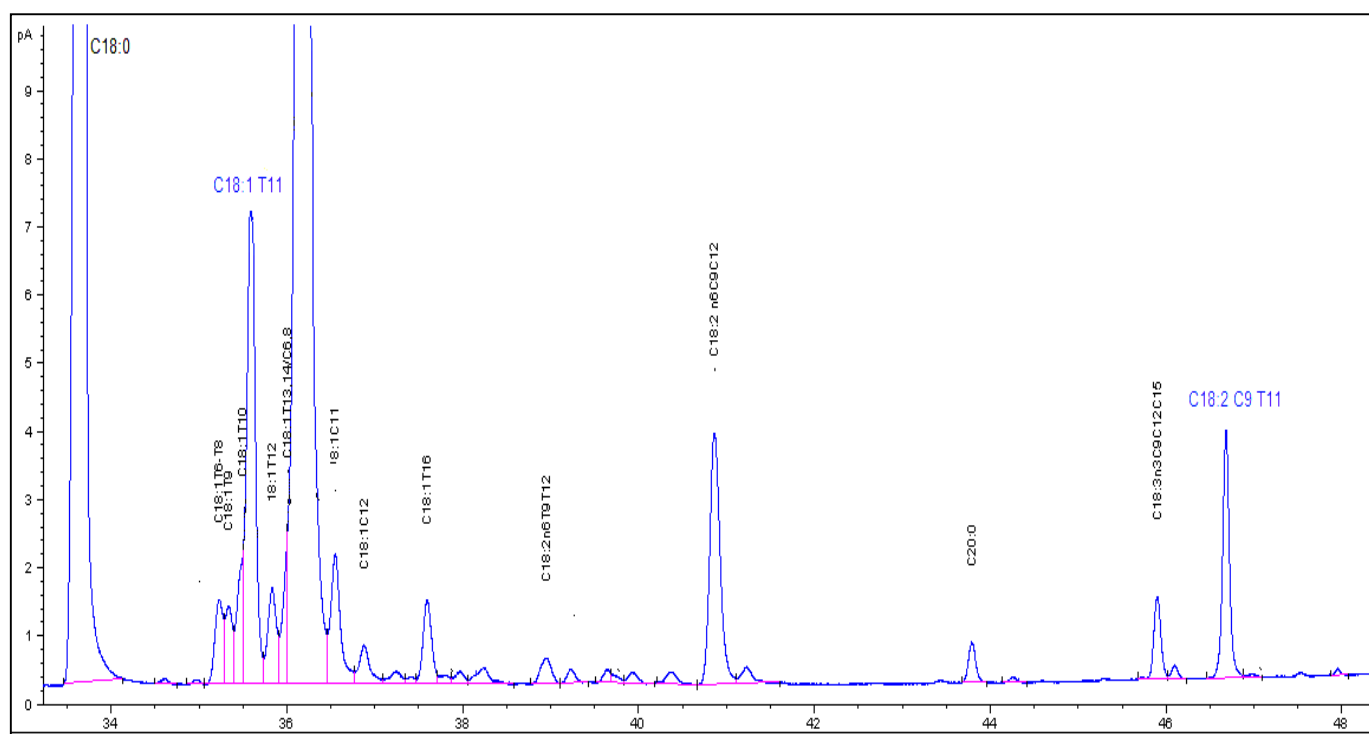


Figura 25 - Cromatograma das amostras de QMP (20dias de maturação) com tratamento.

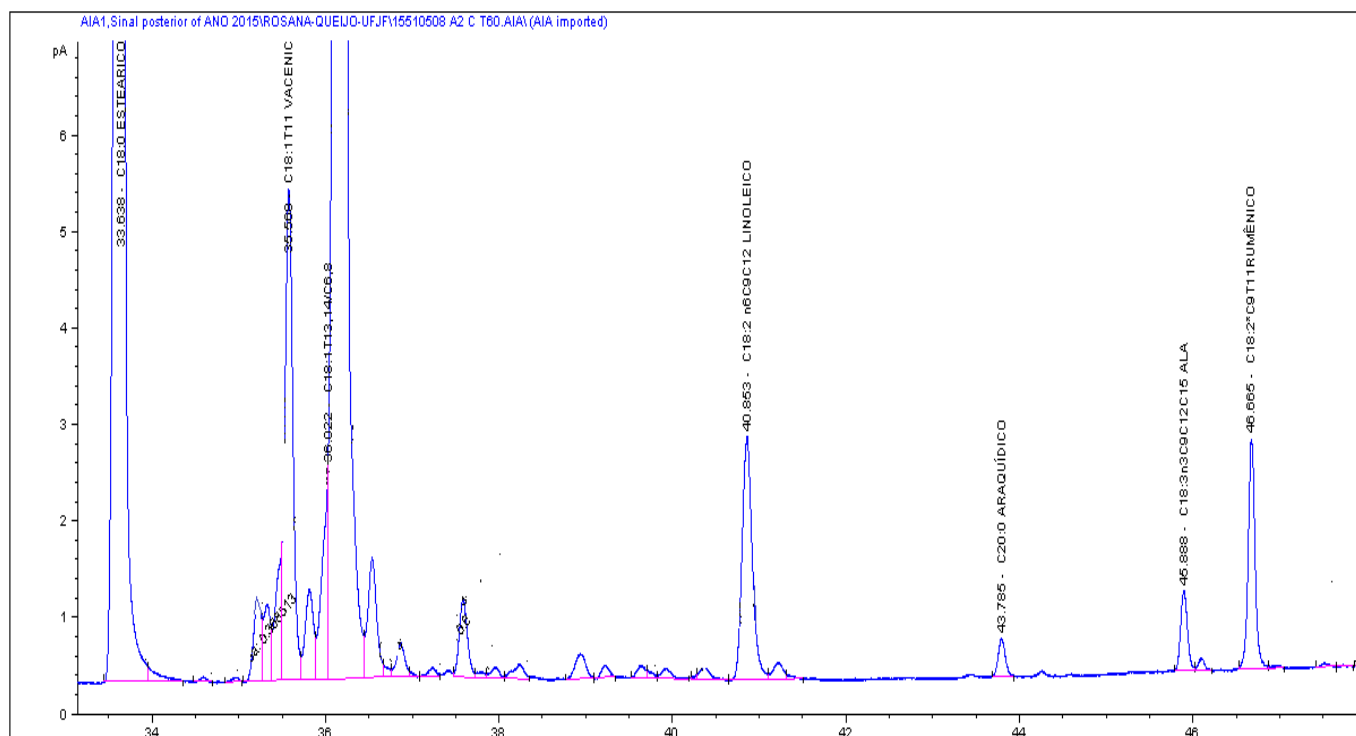


Figura 26 - Cromatograma das amostras de QMP (60dias de maturação) com tratamento.

Durante o processo de maturação ocorre a perda de umidade ao longo da maturação, concentração de proteínas e uma elevação no teor de gordura, ou seja, quanto maior o tempo de maturação maior é o percentual de sólidos totais devido à perda de umidade (FALLICO et al., 2006). Esse aumento no teor de proteína para queijos com maior tempo de maturação também é afirmado por Madrau et al. (2006), onde relatam que o teor de gordura, proteína, cinzas e cloreto de sódio aumentam ao longo do período de maturação.

O ácido graxo linoléico (C18:2), está entre um dos principais ácidos graxos dos vegetais, pode ser encontrado em quantidade muito pequena na gordura corporal dos ruminantes e tido como um dos ácidos graxos essenciais, por não ser sintetizado pelos animais, devendo fazer parte da dieta dos mesmos. Está presente em abundância em óleos vegetais como os de girassol, canola, soja e linhaça, e sua concentração no leite e na carne de bovinos pode ser elevada se os animais forem alimentados com dietas ricas em óleo de cereais e sementes (Demeyer & Doreau, 1999).

5.1 .2 – Analise Sensorial

Queijos maturados com baixo teor de gordura apresentam sabor e aroma atípicos, outro fator que alteram o sabor e o aroma dos queijos são devido a presença dos ácidos graxos de cadeias curtas liberados por meio da atividade lipolítica. A gordura contribui na liberação destes compostos, porém, quando o conteúdo de gordura é diminuído, estes ácidos graxos estão presentes em menor quantidade e o queijo apresenta falta de sabor e aroma. (McSweeney, 1997).

No entanto, o resultado da análise sensorial por comparação pareada, observou-se que em média as aprovações foram bem semelhantes, descreveram similiaridades entre as amostras com relação a aparência, sabor e textura, os resultados indicaram que os provadores não diferenciaram as amostras do queijo Minas Padrão com adição de CLA, daqueles sem ($p>0,05$), comprovando que a presença de CLA não interferiu na preferência dos queijos.

6. CONCLUSÃO

A partir dos resultados dessa análise exploratória, concluiu-se que:

- com a dieta dos animais, houve significativo aumento de CLA no leite, assim como nos queijos Minas Padrão fabricados (Figura - 27).

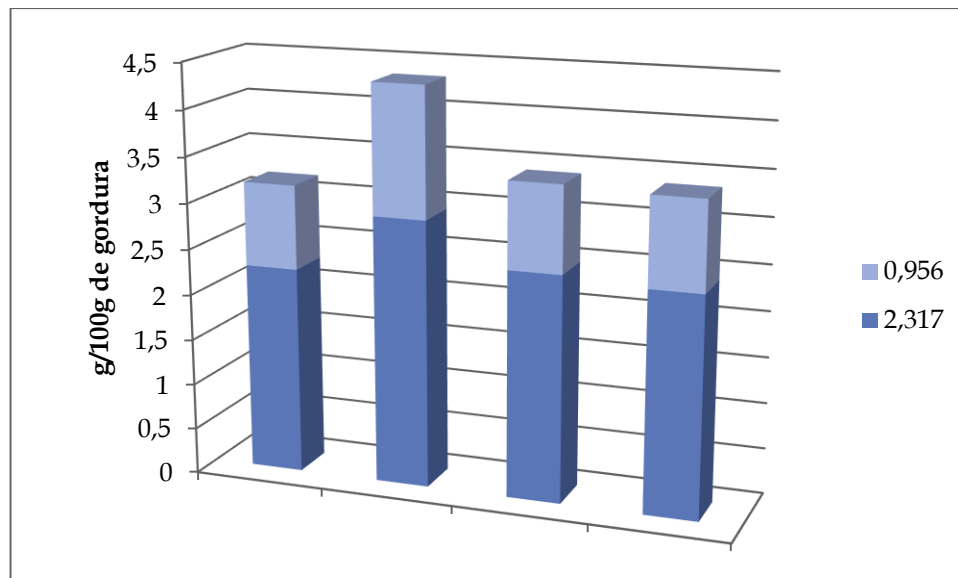


Figura 27 - Gráfico com amostras enriquecidas com CLA.

- durante o processo de maturação dos QMP não foi observado alteração significativa, em relação ao teor de CLA;
- a aceitação do produto com adição de CLA foi satisfatória entre o grupo de voluntários, sem alteração do sabor;

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dessa forma, pode-se dizer que os queijos analisados, por apresentarem significativo percentual de CLA podem oferecer benefícios a saúde humana, uma vez que, esse ácido graxo auxilia na redução da incidência e no crescimento de tumores, combate a obesidade, fortalecimento do sistema imune, combate ao colesterol e inúmeros outros benefícios já confirmado pela literatura.

Estudos anteriores com aumento de CLA, já foram realizados com a manteiga, mas relatos de estudos nessa linha em queijos são reduzidos, principalmente no que diz respeito a queijos brasileiros. Pesquisas apontam que o CLA apresenta potentes atividades bioquímicas e fisiológicas, protegendo o organismo contra enfermidades, o que torna interessante a produção de derivados do leite ricos em CLA. O QMP é um dos queijos mais populares no Brasil e intensamente fabricado em Minas Gerais, de simples elaboração e de muita versatilidade na culinária, dessa forma buscamos obter um QMP, dentro dos chamados alimentos funcionais e buscando atender o mercado consumidor que tem sido exigente com qualidade nutricional.

Novos estudos são necessários, considerando que o conhecimento sobre as propriedades físico-químicas, sensoriais e reológicas deste ácido graxo nos alimentos ainda é limitado, esse trabalho abre espaço para analisarmos, várias propriedades interessantes, como se correu variações no potencial oxidativo, análises no perfil de textura, assim como várias outras propriedades que podem ter ou não sofrido alterações com o aumento de CLA no produto apresentado. Enfim, esse trabalho abre espaço para inúmeras questões a serem levantadas sobre a relação do CLA e diversas outras propriedades e características nos derivados do leite.

8. BIBLIOGRAFIA

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO – ABIQ(a). Disponível em: www.abiq.com.br/> acesso em: 12/02/2016.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Métodos de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas** – NBR 12994. Rio de Janeiro: ABNT; 1993.

ANVISA. Portaria n º 31, de 13 de janeiro de 1998. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/31_98.htm. Acessado em 03/12/03.

Ackman, R. G. 2002. The gas chromatograph in practical analyses of common and uncommon fatty acids for the 21st century. Anal. Chim. Acta 465:175-192.

BAUMGARD, L. H.; SANGSTER, J. K.; BAUMAN, D. E. Milk Fat **Synthesis in Dairy Cows Is Progressively Reduced by Increasing Supplemental Amounts of trans-10, cis-12 Conjugated Linoleic Acid (CLA)**. The Journal of Nutrition, v. 131, n. 6, p. 1764-1769, 2001. Disponível em: < <http://jn.nutrition.org/content/131/6/1764.abstract> >.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p.8.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA. PORTARIA Nº 146 DE 07 DE MARÇO DE 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Brasília, 1996. Disponível em: http://www.cidasc.sc.gov.br/html/servico_animal/Inspecao%20Animal/ORIENTA%C7%D5ES%20SOBRE%20ROTULAGEM/LEITE%20E%20DERIVADOS/PORTARIA%20146_96_RTIQ%20produtos%20leiteos.pdf> acesso em: 12/02/2016.

Adaptado de: QUEIJOS NO BRASIL. **Fabricação artesanal ou caseira de queijos**. Juiz de Fora: Queijos no Brasil. 76 p. Apostila.

BRASIL. **Regulamento técnico de Identidade e qualidade do queijo**

BRESSAN, M. Práticas de manejo sanitário em bovinos de leite. Juiz de Fora: Embrapa/CNPGL, 2000. 65p

CARDOSO, A. L.; OLIVEIRA, G. G. Alimentos funcionais. **Jornal Eletrônico - Empresa Júnior de Consultoria em Nutrição**, n. 5, 2008.

CARVALHO, M. P. Manipulando a composição do leite: gordura, I Curso on line sobre a qualidade do leite. Milkpoint. 2000.p-15.

Christie, W. W. 1989. Gas Chromatography and Lipids. The Oily Press, Bridgwater.

Coalho: Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001. Disponível em:<http://www.ufrgs.br/alimentus/laticinios/legislacao/IN30_02.pdf>. Acesso em: 12/02/2016.

CURI, R. *et al.* **Entendendo a gordura: Os ácidos graxos**. 1. Barueri: 2002. 580 ISBN 85-204-1355-2.

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and lipids. **Proceedings of the nutrition society**, v.58, p.593-607, 1999.

DHIMAN, T.R.; ZAMAN, M.S.; McQUEEN, I.S. *et al.* Influence of corn processing and frequency of feeding on cow performance. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.217-226, 2002.

DIAS, R.V.C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasileira, Mossoró**, v.1, n.1, p.23-27, 2007. Disponível em: . Acesso em: 17 jan. 2011.

DURR, J. W; FONTANELLI, R. S., BURCHARD, J. F. fatores que afetam a composição do leite. In: Sistema de produção de leite baseado em pastagens sob plantio direto. KOCHHANN, R. A. ; TOMM, G. O.; FONTANELLI, R. S.

DUSI, G. A.; ASSIS, A. G. de. O Pólo de excelência como articulador do desenvolvimento sustentável dos segmentos de produção e transformação do leite e derivados. In. A cadeia produtiva do leite na mesorregião Campos das Vertentes de Minas Gerais / Editores, Alziro Vasconcelos Carneiro... [et al.], - São João Del Rei: Ed. UFSJ; Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2011. 160p.

Passo Fundo: Embrapa Trigo/ Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite/ Bagé: Embrapa Pecuaria do Sul/ Montevideo: Procisur, 2000 p. 135-156.

Eder, K. 1995. Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. J. Chromatogr. B: **Biomed. Sci. Appl.** 671:113-131.

ENJALBERT, F. Fibres et fibosite de la ration. In: LES RENCONTRES QUALITÉ DU LAIT, 2. 1998, **Besançon. Annales... Besançon**, 1998. p.75 - 89.

ENGETECNO. Disponível em:

http://www.engetecno.com.br/port/queijo_minas_padrao.htm> acessado em: 12/02/2016.

FALLICO, V. et al. Proteolysis and microstructure of piacentinu ennese cheese made using different farm technologies. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.89, n.1, p. 37-48, 2006.

FERNANDES-SALGUEIRO, J.; MARCOS, A.; ALCALA, M.; ESTEBAN, M.A. Proteolysis of cabrales cheese and other European blue cheese varieties. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.55, n.1 p.141-145, Feb. 1988.

FERREIRA, C. L. D. F. Produção de Queijo Minas Padrão, Prato e Provolone. Viçosa, CPT, 2005, 126 p.

FONSECA, L. F. L. da; SANTOS M. V. conceitos básicos sobre composição do leite e métodos utilizados. 1 Curso on line sobre qualidade do leite. Milkpoint. 2000 p-11.

GAMA, M.A.S.; LOPES, F.C.F.; RIGUEIRA, J.C.S. ET al. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa de manteigas oriundas de vacas recebendo óleo de soja. In CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 21., 2008, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: SBCTA/UFMG, 2008.

GAMA, M.A.S.; RIBEIRO, C.G.S.; LOPES, F.C.F.; MORENZ, M.J.F., RODRIGUES, N.M. ET al. **Desempenho produtivo e perfil de ácidos graxos do leite de vacas que receberam níveis crescentes de óleo de girassol em dietas à base de capim-elefante.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.66, n.5, p. 1513-1521, 2014.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; et al. Conjugated linolenic acids is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase. **Journal Nutrition**, v.130, n.9, p.2285-2291, 2000.

HEMME, T.; OTTE, J. **Status of and prospects for smallholder milk production** - a global perspective. Rome: FAO, 2010. 180 p.

IP, C. et al. Mammary Cancer Prevention by Conjugated Dienoic Derivative of Linoleic Acid. **Cancer Research**, v. 51, n. 22, p. 6118- 6124, 1991.

JENKINS, T.C.; WALLACE, R. J.; MOATE, P. J. et al. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, n.86, p.397-412, 2008.

KELLY, M.L.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid: **a potent anticarcinogen found in milk fat.** Proc. Cornell Nutr. Conf., Ithaca NY, 1996, p.65-74.

Kelly GS. Conjugated linoleic acid (CLA): a review. *Alt Med Rev* 2001; 6(4):367-382.

KHANAL, R. C. ET. AL. Consumer acceptability of conjugated linoleic acid-enriched Milk and cheddar from cows grazing on pasture. *J. Dairy Sci.* 88: 1837-1847

MADRAU, M.A. et al. Employment of autochthonous microflora in pecorino sardo cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. **International Dairy Journal**, Oxford, v.16, n.8, p.876-885, 2006.

MARTINS, C. E.; BRESSAN, M.; COSER, A. C.; ZOCCAL, R.; ESPÍNDOLA, H. D. (Ed.). **Tecnologias para la producción de leche en los trópicos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2002. P.228

MCSWEENEY, P. L. H.; SOUSA M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: a review. **Le Lait**, v. 80, p. 293 - 324, 2000.

McSweeney PLH. The flavour of milk and dairy products: III. Cheese: taste. **Int J Dairy Technol**. 1997;50(4):123-8.

MINIM, Valeria Paula Rodrigues. Análise Sensorial, Estudos com Consumidores. **Editora UFV**, Universidade Federal de Viçosa, 2006.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. Artigo **476**. Rio de Janeiro, 29 mar.1952. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/>>. Acesso em: 03 out de 2015.

MODESTO, E.C. Suplementação em pastagem de gramíneas tropicais com silagem do terço superior da rama de mandioca na alimentação de vacas leiteiras na época das águas. 2002. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.

MOREIRA, A.M. et al. Produção e composição do leite de vacas lactantes recebendo dietas contendo silagem de milho e feno de alfafa e de capim-coastcross. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. Anais...(CD-ROM) Viçosa: SBZ, 2000, p.120.

Motriz Jul-Dez 2001, Vol. 7, n.2, pp. 83-91.

NUNES, J. C.; TORRES, A. G. Fatty acid and CLA composition of Brazilian dairy products, and contribution to daily intake of CLA. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 8, p. 782-789, 2010.

OLIVEIRA, C.A.F.; FONSECA, L.F.L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, Belo Horizonte, v.13, n. 62, p.10- 16, 1999.

PALMQUIST, D.L.; LOCK, A.L.; SHINGWELD, K.J. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. In: ADVANCES IN FOOD AND NUTRITION RESEARCH, 50., 2005, San Diego. **Anais...** San Diego: Elsevier Inc., San Diego, 2005. p.179-7.

Pariza, M. W.; Park, Y.; Cook, M. E. The biologically active isomers of conjugates linoleic acid. **Progress in lipid research**. 40, 283-298. 2001.

PARYZA M. W. (2004) Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 79:1132S-1136S.

PENNA, C. F. de A. M.; SOUZA, M. R.; FONSECA, L. M.; CERQUEIRA, M. O. P.; LEITE, M. de O.; Determinação dos Teores de Gordura, Extrato Seco Total e Extrato Seco Desengordurado do Leite. Universidade Federal de Minas gerais.

QUÍMICA NOVA. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. Vol. 27, Nº. 2, 293 – 300, 2004. Disponível em: <http://www.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2004/vol27n2/19-DV03033.pdf> acesso em: 13/02/2016.

Raloff J. The good trans fat. *Sci News* 2001;159(9):136-8.

RESOLUÇÃO Nº 065 / 2005 **Regulamento da inspeção sanitária e industrial para leite e seus derivados.** – Disponível em [http:// < www.seab.pr.gov.br/arquivos/pdf/resolucao56leite>](http://www.seab.pr.gov.br/arquivos/pdf/resolucao56leite.pdf).

Revista mente e cérebro, n.32, pg.15. Ediouro Duetto Editorial.

Roese-Gottlieb method in AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (W. Horwitz, Ed.), 15th ed. Method 989.05. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, U.S.A 1990.

Shantha NC, Crum AD, Decker EA. Evaluation of conjugated linoleic acid concentrations in cooked beef. **J Agric Food Chem** 1994; 42:1757-60.

SEBÉDIO, J.L.; GNAEDIG, S.; CHARDIGNY, J.M. Recent advances in conjugated linoleic acid research. Inst. National de la Recherche Agronomique, Dijon, France, 1999.

SKOOG, D. A; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A., Princípios de Análise Instrumental, 5ª edição, **Editora Bookman**, 2006.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLT, C. B. Lipídeos. In: SOLOMONS, T. W. G. e FRYHLT, C. B. (Ed.). **Química Orgânica**. 8ª. Rio de Janeiro: LTC, v.2, 2006. p.366-396.

SPENCER, S. B. A importância e procedimentos para a **limpeza** e higienização de equipamentos de leite. In: ENCONTRO DO CONSELHO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2000, Curitiba.**Anais...** Curitiba: Conselho Brasileiro de Qualidade do leite, 2000. p. 53.

VISENTAINER, J.V. e FRANCO, M.R.B. Ácidos Graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação. **Ed. Varela**, São Paulo, 2006.