



**INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO TÉRMICO SOBRE OS
ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE BOVINO**

EDVALDO NASCIMENTO COSTA

2011

Edvaldo Nascimento Costa

**INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO TÉRMICO SOBRE OS
ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE BOVINO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração em Engenharia de Processos de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador:

Prof^a DSc. Julliana Izabelle Simionato

Co-orientador:

Prof^o DSc. Marcelo Franco

ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
2011

637.1 Costa, Edvaldo Nascimento.
C871i

Influência do tratamento térmico sobre os ácidos graxos do leite bovino. / Edvaldo Nascimento Costa. – Itapetinga, BA: UESB, 2011.

46 fl..

Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB - *Campus* de Itapetinga. Sob a orientação da Prof^ª. DSc. Julliana Izabelle Simionato e co-orientador Prof. Dsc. Marcelo Franco.

1. Leite bovino – Redução de ácidos graxos – Pasteurização. 2. Leite bovino – Análise físico-química – Tratamento térmico I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, *Campus* de Itapetinga. II. Simionato, Julliana Izabelle. III. Franco, Marcelo. IV. Título

CDD(21): 637.1

Catálogo na Fonte:

Cláudia Aparecida de Souza – CRB 1014-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Leite bovino – Redução de ácidos graxos – Pasteurização.
2. Leite bovino – Análise físico-química – Tratamento térmico
3. Tecnologia do Leite

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE ALIMENTOS
Área de Concentração Engenharia de Processos de Alimentos

Campus de Itapetinga-BA

TERMO DE APROVAÇÃO

Título: INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO TÉRMICO SOBRE OS ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE BOVINO

Autor: Edvaldo Nascimento Costa

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**, área de concentração em **Engenharia de Processos de Alimentos**, pela Banca Examinadora:

Prof. Dr^a. Julliana Izabelle Simionato– UESB
Presidente

Prof. Dr^a. Marcela Boroski – UEM

Prof. Dr^a. Silmara Carvalho – UESB

Data da defesa: 28/04/2011

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida e oportunidades que me foram dadas.

A minha esposa Gabriele pelo amor, incentivo e apoio nas realizações de vários sonhos. A meu filho Pedro amor de minha vida.

As minhas mães Orleide, Maria da Gloria e Izabel Cristina (*in memória*), pelo amor incondicional, pela formação moral, educacional e afetiva.

A meu pai Humberto Costa (*in memória*), pela formação honrada e de caráter que me foi dada. *En Costa semper Costa est.*

A meu irmão Matheus Costa pelos bons momentos e ensinamentos de como ser irmão.

A minha orientadora Dsc. Julliana Izabelle Simionato, pela oportunidade, incentivo e apoio, que nunca serão esquecidos.

Aos meus grandes mestres José Paulo da Silva, Reginaldo Sant'Ana, Aloísio Passos, Alex Vidigal, Claudio Costa, Murilo Pires. Que me ajudaram muito nesta minha jornada inicial pelo mundo lácteo e no meu crescimento profissional.

A Ellen pela força e incentivo no projeto. As irmãs Moreira (Suian e Karilan) pela ajuda na pesquisa

A GLOBALFOOD pela realização de um sonho e a Valedourado pela continuação dele.

Aos colegas de fabrica, Yuri Tavares um grande defensor da igualdade, liberdade e fraternidade. A toda a equipe da Valedourado pela ajuda.

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

O MEU MUITO OBRIGADO!!!!

"Não sabendo que era impossível, foi lá e fez"

Jean Cocteau

“Brinque de trabalhar, mas nunca trabalhe brincando”

Reginaldo Sant’Ana

“O rei é sempre o rei.”

Edvaldo Costa

RESUMO

COSTA, E. N. **Influência do Tratamento Térmico sobre os Ácidos Graxos do Leite Bovino.** Itapetinga-BA: UESB, 2011. 46p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia de Alimentos - **Engenharia de Processos de Alimentos**).*

O objetivo do presente trabalho foi verificar como o tratamento térmico de pasteurização e esterilização comercial influenciam nas características físico-químicas e perfil lipídico de leite bovino. Para isso, foram analisadas amostras de: leite *in natura* (n = 22), leite pasteurizado (n = 22) e leite UHT (Ultra High Temperature) (n = 22), todas pertencentes a um mesmo lote de coleta. A análise estatística (teste de Tukey) foi realizada com o programa SAEG. O perfil lipídico foi analisado após extração pelo método Folch (1957) seguida por transesterificação (Bannon *et. al.*, 1982) e análise em cromatógrafo a gás com detector por ionização de chama. As análises físico-químicas de densidade e teor de gordura foram desenvolvidas pelo método Gerber; de acidez titulável pelo método Dornic; do teor de extrato seco total e do extrato seco desengordurado, através do calculador de Ackerman; do índice crioscópico por um lactocrioscópio eletrônico digital; proteína e lactose em equipamento Milkanalyser da Beocolac Germenay. Nas referidas análises não houveram diferenças ($p > 0,05$) entre o leite *in natura* e o leite pasteurizado e entre o leite pasteurizado e o leite UHT; somente houve diferença entre o leite *in natura* e o leite UHT, demonstrando que a ação dos sucessivos tratamentos térmicos influencia nos parâmetros físico-químicos. Houve redução de gordura entre os diferentes tratamentos, devido à padronização da mesma, mas mesmo assim as amostras analisadas ficaram dentro dos padrões exigidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Quanto a quantificação dos ácidos graxos, não houve significativa ($p > 0,05$) entre o leite *in natura* e o leite pasteurizado e entre o leite pasteurizado e o leite UHT, para saturados, monosaturados, poli-insaturados e ácidos linoléicos conjugados. Somente houve diferença entre o leite *in natura* e o leite UHT, o que demonstra a ação de redução dos ácidos graxos pelos sucessivos tratamentos térmicos. Quanto aos ácidos linoléicos conjugados a redução significativa pode ser atribuída à oxidação.

Palavras chaves: leite, tratamento térmico e ácido linoléico conjugado

*Orientador: Julliana Izabelle Simionato, D.Sc., UESB e Co-orientadores: Marcelo Franco, D.Sc., UESB.

ABSTRACT

COSTA, E. N. **It influences of the Thermal Treatment on Acid Fatty of the Bovine Milk.** Itapetinga-BA: UESB, 2011. 46p. (Thesis – Mastership in Engineering Food - Engineering of Processes of Food).*

The objective for the present work was to verify as the thermal treatment of pasteurization and commercial sterilization, they influence on the physiochemical characteristics and profile lipids of bovine milk. For that, samples were analyzed of: raw (n = 22) milk, pasteurized (n = 22) milk and milk UHT (Ultra High Temperature) (n = 22), all belonging to a same collection lot. Analyze her/it statistics (test of Tukey) was accomplished with the program SAEG. The profile lipid was analyzed after extraction by the method following Folch (1957) for transesterification (Bannon *et. al*, 1982) and analysis in gas chromatography equipped with a flame ionization detector. The physiochemical analyses of density and fat tenor were developed by the method Gerber; of acidity titulável for the method Dornic; of the tenor of total dry extract and of the degreased dry extract, through the calculator of Ackerman; of the index cryoscopic for a digital electronic lacto cryoscopic; protein and lactose in equipment Milkanalyser of Beocolac Germenay. In referred analyze them there were not differences ($p > 0,05$) between the raw milk and the pasteurized milk and between the pasteurized milk and the milk UHT; there was only difference between the raw milk and the milk UHT, demonstrating that the action of the successive thermal treatments influences in the physiochemical parameters. There was fat reduction among the different treatments, due to the standardization of the same, but even so the analyzed samples were inside of the patterns demanded by the Ministry of the Cattle Agriculture and Provisioning (MAP). As the quantification of the acids fats, there was not significant ($p > 0,05$) between the raw milk and the pasteurized milk and between the pasteurized milk and the milk UHT, to have saturated, monosaturados, polyunsaturated and acids conjugated linoleic. There was only difference between the raw milk and the milk UHT, what demonstrates the action of reduction of the acids fats for the successive thermal treatments. As for the acids conjugated linoleic the significant reduction can be attributed to the oxidation.

Key words: milk, fatty acid and heat treatment

*Adviser: Julliana Izabelle Simionato, D.Sc., UESB e Co- advises: Marcelo Franco, D.Sc., UESB.

LISTAS DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Binômios temperatura x tempo de pasteurização utilizados em diversos países..... | 18 |
| Tabela 2 - Principais ácidos graxos presentes no leite..... | 21 |
| Tabela 3 - Estimativa da disponibilidade de CLA de gordura nos domicílios brasileiros ... | 23 |
| Tabela 4 - Características físico-químicas dos leites <i>in natura</i> e dos leites submetidos a diferentes tratamentos térmicos..... | 32 |
| Tabela 5 - Ácidos Graxos Saturados em mg.g^{-1} de lipídios para leite <i>in natura</i> , pasteurizado e esterilizado. | 34 |
| Tabela 6 - Ácidos Graxos mono e poli-insaturados em mg.g^{-1} de lipídios para leite <i>in natura</i> , pasteurizado e esterilizado..... | 36 |
| Tabela 7 - Ácidos Graxos linolêicos conjugados em mg.g^{-1} de lipídios para leite <i>in natura</i> , pasteurizado e esterilizado..... | 37 |
| Tabela 8 - Totais de ácidos graxos saturados, mono e insaturados, relação ácido graxo insaturado/saturado, ômega 3, ômega 6 e relação entre ômega 6 e ômega 3 em mg.g^{-1} de lipídios para leite <i>in natura</i> , pasteurizado e esterilizado..... | 38 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------|--|
| IUPAC | International Union Pure Applied Chemistry |
| UAT | Ultra Alta Temperatura |
| UHT | Ultra High Temperature |
| CLA | Conjugated Linoleic Acid |
| LTLT | Low Temperature, Long Time |
| HTST | High Temperature, Short Time |
| AGT | Ácidos Graxos Trans |
| HDL | High Density Lipoprotein |
| LDL | Low Density Lipoprotein |
| CG | Cromatografia em fase Gasosa |
| DIC | Detector de Ionização de Chama |
| ECL | Equivalent Chain Length |
| NUPESQ | Núcleo de Pesquisa em Química |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 11 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 13 |
| 2.1 História da tecnologia do leite – Brasil..... | 13 |
| 2.2 Aspectos mercadológicos do leite UHT(Ultra High Temperature)..... | 15 |
| 2.3 Tratamento Térmico no leite | 17 |
| 2.4 Aspectos gerais da composição e propriedades físico-químicas do leite.... | 19 |
| 2.5 Lipídeos do leite..... | 20 |
| 2.6 Ácidos Graxos presentes no leite..... | 21 |
| 2.7 Ácido Linoléico Conjugado..... | 22 |
| 2.8 Quantificação de ácidos graxos no leite por cromatografia a gás..... | 25 |
| 3 OBJETIVOS..... | 27 |
| 3.1 Objetivo geral..... | 27 |
| 3.2 Objetivos específicos..... | 27 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 28 |
| 4.1 Amostragem..... | 28 |
| 4.2 Métodos..... | 28 |
| 4.2.1 <i>Análises Físico-Químicas.....</i> | <i>28</i> |
| 4.2.2 <i>Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos.....</i> | <i>28</i> |
| 4.2.3 <i>Identificação e quantificação dos ésteres metílicos.....</i> | <i>29</i> |
| 4.2.4 <i>Identificação dos ésteres metílicos.....</i> | <i>29</i> |
| 4.2.5 <i>Avaliação da resposta do detector de ionização de chama.....</i> | <i>30</i> |
| 4.2.6 <i>Quantificação dos ésteres metílicos.....</i> | <i>30</i> |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 32 |
| 5.1 Análises químicas..... | 32 |
| 5.2 Quantificação dos ácidos graxos..... | 34 |
| 6 CONCLUSÃO..... | 39 |
| REFERÊNCIAS..... | 40 |
| ANEXOS..... | 46 |

1 INTRODUÇÃO

A indústria leiteira mundial atravessa um período de intensas transformações em sua estrutura, que pode ser identificada como grandes tendências à diminuição dos preços pagos ao produtor, à redução de subsídios, ao aumento do módulo de produção e, principalmente ao aumento nas exigências de qualidade do leite, em decorrência à maior preocupação dos consumidores com relação à segurança alimentar e busca pelo consumo de produtos mais saudáveis (FONSECA *et al.*, 2000).

Nesse novo cenário, os produtores e as indústrias precisam se adequar de forma a manter a atividade de produção de leite como uma operação mais rentável e eficaz. Para tanto, fatores como o aumento no módulo de produção, melhoria nos índices de produtividade, produtos com maior valor agregado e incremento da qualidade do leite são aspectos essenciais (FONSECA *et al.*, 2000).

Ao longo do tempo, o leite tornou-se um alimento básico da dieta humana, sendo considerado um dos alimentos mais nobres, dada sua composição peculiar, rica em proteínas, gorduras, carboidratos, sais minerais, aminoácidos essenciais e vitaminas (VIDAL, 2001), podendo ser utilizado na forma *in natura*, e também servir como matéria-prima para a produção de diversos outros produtos, como queijos, iogurtes e manteiga, (RENTERO, 1993).

O consumo de leite no Brasil é grande quando comparado a outros países, porém ainda está bem distante da recomendação do Ministério da Saúde. Isso talvez ocorra porque dietas baseadas em produtos lácteos, as quais contêm altos níveis de ácidos graxos saturados, sempre foram associadas a uma variedade de doenças nos homens, especialmente as cardiovasculares (SIMIONATO, 2008).

Nas últimas décadas, os centros de pesquisas que estudam o câncer têm enfatizado a necessidade de se estudarem novas substâncias químicas no combate a essas doenças. Com isso, têm sido estudadas substâncias presentes em alimentos; entretanto, a maioria dos compostos que exibiram alguma atividade anticarcinogênica foi originada de plantas. No final da década de 80, contudo, foi identificado um ácido graxo de origem animal com propriedades anticarcinogênicas, denominado ácido linoléico conjugado, que do inglês recebe a sigla CLA (conjugated linoleic acid) (SANTOS, 2002).

CLA é um termo que descreve os isômeros geométricos do ácido linoléico. Ele é formado no rúmen, como um primeiro intermediário da biohidrogenação do ácido linoléico, pela enzima ácido linoléico isomerase, proveniente da bactéria anaeróbica ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens* (SANTOS, 2002).

Dentro dessa perspectiva, os pesquisadores estão estudando diversas formas de aumentar, de forma natural, a concentração de CLA em alimentos. Sabe-se que o nível de CLA no leite varia em função da dieta; desse modo, a principal estratégia adotada pelo setor lácteo tem sido a modificação da ração de vacas com suplementação de ácidos graxos poli-insaturados para elevar a concentração de CLA no leite (SANTOS, 2002).

Os produtos lácteos constituem uma alternativa no segmento da indústria alimentícia para os consumidores, pois tais produtos estão entre os alimentos que apresentam maior concentração de CLA da dieta do homem (SANTOS, 2002).

Por ser um alimento bastante perecível e de fácil deterioração, tornou-se necessário submeter o leite a tratamentos térmicos, a fim de que seu período de conservação fosse estendido, além de conferir-lhe segurança para consumo (BIZARI, 2002).

Neste trabalho foi verificada a influência do tratamento térmico de pasteurização e esterilização comercial sobre parâmetros físico-químicos e perfil lipídico de leite.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 História da tecnologia do leite no Brasil

A produção de leite começou a mais de 6.000 anos atrás. Os animais produtores de leite de hoje foram desenvolvidos a partir de animais indomados que, por milhares de anos, viviam a diferentes altitudes e latitudes e expostos as mais severas condições naturais. Praticamente em todos os locais onde o homem fixou-se na terra, animais eram domesticados. Como regra foi escolhido animais herbívoros, polivalentes para satisfazer as necessidades de leite, carne, roupa, porque eles eram menos perigosos e mais fáceis de serem controlados do que animais carnívoros (DAIRY HANDBOOK – TETRA PAK, 1996).

De modo semelhante a muitas situações relatadas na história, o acaso e a necessidade de sobrevivência, certamente, fizeram com que o homem identificasse, ainda na antiguidade, a importância do leite e de, pelo menos, dois de seus derivados, a manteiga e o queijo, como importantes fontes nutricionais. A utilização destes três produtos pelas civilizações mais antigas está comprovada em pelo menos cinco citações no Antigo Testamento: Gênesis 18:8, 1º Samuel 17:18, 2º Samuel 17:29, Jó 10:10 e Provérbio 30:331, mas evidentemente, naquela época ainda não se conhecia uma forma eficiente para a conservação do leite (ANDRÉ GUEDES *et al.*, 2006).

No Brasil há registros de que os bovinos, para suprir a necessidade de leite e carne, foram introduzidos por Martim Afonso de Souza e sua mulher Ana Pimentel após 1531, na capitania de São Vicente, quando da 1ª expedição colonizadora enviada por D. João III, rei de Portugal. Consta que em 1535, o donatário de Pernambuco, Duarte Coelho, tenha levado bovinos para o nordeste, enviando algumas cabeças para a Bahia. Em 1550, Tomé de Souza, após ter fundado Salvador, na Bahia, onde instalou a capital do Brasil colonial, mandou buscar em Cabo Verde um lote de bovinos. Acredita-se que destes pontos geográficos o rebanho bovino tenha se espalhado pelo Brasil, dando origem às fazendas de gado que mais tarde se transformaram em povoados e vilas. Data do século XVIII a criação das primeiras fazendas regulares de gado bovino no Brasil (ANDRÉ GUEDES *et al.*, 2006)..

Os senhores de engenho, em várias regiões do Brasil, possuíam fazendas com criação de bovinos que, inicialmente, foram utilizados no trabalho do campo e nos engenhos de açúcar. No final do século XIX, novas raças de bovinos foram introduzidas no país, sendo que em 1893 foram importados exemplares selecionados da raça zebu. Nessa época a produção de leite e carne atendia ao consumo interno, e o couro, de maior valor, era exportado (ANDRÉ GUEDES *et al.*, 2006).

Há registros de que a primeira fábrica de laticínios da América do Sul foi fundada por volta de 1888, na Serra da Mantiqueira, em Minas Gerais, pelo Dr. Carlos Pereira de Sá. Para esta instalação importou maquinário e mão-de-obra especializada da Holanda (ANDRÉ GUEDES *et al.*, 2006).

Até início do século XX, o leite era consumido no Brasil sem nenhum tipo de tratamento, podendo por isso causar uma série de doenças aos consumidores. O transporte do leite que era feito pelos escravos, em latão, passou a ser feito pelos vaqueiros que o produziam nas periferias das cidades. Entregue diretamente ao consumidor, tinha um curtíssimo prazo de validade (ALVES, 2001).

Após as descobertas de Pasteur sobre fermentação e pasteurização em 1863, outras combinações tempo-temperatura de aquecimento, durante o processo de pasteurização do leite, foram investigadas e propostas. Segundo Pelczar e colaboradores (1981) as relações originais de tempo e temperatura de pasteurização foram obtidas com o *Mycobacterium tuberculosis*, considerado como o agente patogênico mais termoresistente capaz de ocorrer no leite. Esta bactéria é destruída quando exposta a uma temperatura de 140 °F (60 °C) durante 10 min. Mais tarde foi descoberto que a *Coxiella burnetii*, agente etiológico da febre Q, transmissível pelo leite, pode sobreviver em alimento aquecido a 143 °F (61,7 °C) durante 30 min. Com o resultado destas descobertas, foram estabelecidas as atuais temperaturas de pasteurização em níveis mais elevados e condições de tempo e temperatura (75°C/15 seg.) apenas o suficiente para destruir o maior número possível de micro-organismos nocivos à saúde, sem modificar significativamente as propriedades e a composição do leite (ANDRÉ GUEDES *et al.*, 2006).

A partir da década de 20, algumas indústrias para beneficiamento e distribuição de leite começam a surgir, oferecendo aos consumidores leite tratado pelo processo de pasteurização lenta (30 minutos à temperatura maior que 60°C), tecnologia que surgia no país. O leite era engarrafado em frascos de vidro retornáveis. Tal avanço proporcionava ao consumidor um produto seguro, com prazo de validade maior que o leite entregue pelos vaqueiros (ALVES, 2001).

2.2 Aspectos mercadológicos do leite UHT(Ultra High Temperature)

No Brasil, dentre os sistemas agro-industriais mais importantes encontra-se o setor leiteiro. Sua importância econômica e social para o país é tamanha, que vêm sendo praticada em todo território nacional (SIMIONATO, 2008).

O Brasil encontra-se entre os maiores produtores mundiais de leite – sexto maior em 2007, entretanto apresenta uma produtividade de apenas 1,24 toneladas por cabeça, muito abaixo da de países como Estados Unidos, Alemanha, Reino Unido entre outros (NASCIMENTO, 2009) mas ainda tem um longo caminho pela frente na busca do padrão tecnológico nesse setor dos mercados mais desenvolvidos. A conquista de oportunidades no exterior é outro desafio, pois o país também precisa vencer barreiras comerciais (RIBAS, 2003).

Quanto à produção interna, destacam-se alguns estados como principais produtores. São eles: Minas Gerais, Goiás, Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo. Em nível microeconômico identifica-se a existência de grandes e pequenos produtores, ou seja, tem-se desde a pequena agricultura familiar produzindo 25 litros/dia até o grande latifúndio com produção de 500 litros/dia. O grande desvio-padrão entre as unidades produzidas gera distorções, quando se calcula a produção e a produtividade média no país (NASCIMENTO, 2009).

Em 1972, foi lançado no Brasil o leite submetido a um novo tipo de tratamento térmico: a ultrapasteurização, ou processo UHT ou UAT (“UHT, do inglês *Ultra High Temperature*” ou Ultra Alta Temperatura). Segundo Tetra Pak (1996), UHT é uma técnica para a preservação de alimentos líquidos por meio da sua exposição ao calor intenso por um rápido período de tempo, destruindo os micro-organismos do produto.

O consumidor passou a ter acesso a um produto seguro, com extenso prazo de validade e que poderia ser armazenado à temperatura ambiente. Embora o sistema UHT tenha sido desenvolvido nos Estados Unidos e Europa nas décadas de 40 e 50, somente após o desenvolvimento da embalagem asséptica, na década de 60, na Suécia, que a comercialização do leite longa vida tornou-se viável. O leite longa vida mostrou-se muito adequado às condições brasileiras, uma vez que sua comercialização não requer sistema de distribuição refrigerado (ALVES, 2001).

Em 1994, o leite longa vida passou a ter 20% de participação do mercado de leite fluido. Suas vendas aumentaram 60% em relação ao ano anterior, levando o mercado de leite fluido a retomar seu crescimento. Além da recuperação econômica e estabilização monetária, a partir de 1994, promovidas pelo Governo Federal com o Plano Real, muitas mudanças levaram ao crescimento das vendas de leite longa vida. Várias empresas, principalmente com unidades

industriais instaladas nos estados exportadores da federação, identificaram o potencial do novo produto. Perceberam que, o leite longa vida podia ser comercializado à longa distância, diferentemente do leite pasteurizado. O leite longa vida superou a delimitação regional dos mercados de leite fluido. Em 1996, a participação do leite longa vida no mercado de leite fluido já atingia 39% (ALVES, 2001).

No Brasil, o consumo de leite longa vida cresce ao mesmo tempo em que a preferência pelo leite pasteurizado diminui (NASCIMENTO, 2009). Os fatores relevantes para esse aumento da demanda de consumo do leite UHT são: preferência do consumidor, cuja vantagem seria a facilidade de compra em grandes intervalos e facilidade de estocagem, grande concorrência entre os laticínios, instalação de novas indústrias no país, envolvidas com a sua produção e o crescimento de “marketing” das indústrias de equipamentos sobre as de laticínios e dessas sobre o mercado consumidor (SANTOS *et al.*, 1999).

Estima-se que o leite envasado atinja 72% do consumo global até 2012. Um outro fator que leva ao crescimento, principalmente nos mercados emergentes, é a mudança significativa na forma como os produtos lácteos líquidos são envasados e consumidos. De 2005 a 2008, a participação do leite embalado no mercado mundial caiu em 1,8%. Durante este mesmo período, a participação do leite UHT (leite que, antes de ser consumido, pode ser transportado e armazenado sem refrigeração) aumentou 3,2%. A Tetra Pak estima que o consumo mundial de leite UHT irá crescer a uma taxa anual média de 5,2%, atingindo mais de 70 bilhões de litros em 2012. (TETRA PAK, 2009). Dennis Jönsson, presidente e CEO do Grupo Tetra Pak, comentou que, embora a recessão tenha afetado vários setores, ela não afetou o consumo de leite e outros lácteos líquidos da mesma forma. Acrescentou ainda que, como o leite é um alimento saudável, nutritivo e acessível, consumido por 44% da população mundial diariamente, mesmo com a diminuição do consumo por consumidores que busquem produtos mais baratos dentro da categoria, o mercado do leite UHT continua estável (TETRA PAK, 2009).

O aumento de poder de compra nos últimos anos aliado à maior preferência por produtos de maior qualidade, (NASCIMENTO, 2009), os benefícios do leite, comprovados por pesquisas em diversos países, também começam a ganhar destaque no mercado brasileiro. Estudos diversos apontam para o benefício nutricional do leite e ao mesmo tempo para uma deficiência assustadora na ingestão de cálcio pelos brasileiros, bem abaixo das três doses diárias recomendadas pelo Guia Alimentar para a População Brasileira, publicado em 2006 pelo Ministério da Saúde (TETRA PAK, 2009).

O leite, por ser considerado um alimento completo em nutrientes, facilmente assimiláveis, torna-se um excelente alimento para o funcionamento do organismo humano, protege o trato

gastrointestinal e regulariza os processos de obtenção de energia além de ser benéfico a pessoas de todas as idades, sendo é a melhor fonte natural de cálcio, além de oferecer proteína de alta qualidade e disponibilidade. O consumo constante de leite colabora com a formação e a manutenção da estrutura dos ossos, evitando doenças como a osteoporose, o câncer e a obesidade (TETRA PAK, 2009; CARVALHO, 2000; FONSECA, 2000).

2.3 Tratamento Térmico no leite

Em função das características do leite *in natura* é indispensável que ele seja acondicionado sob baixas temperaturas e que na fase de beneficiamento seja submetido a tratamento térmico para a destruição dos micro-organismos sempre que destinado ao consumidor final (MELLO, 2005).

Segundo Muir (1996), a maneira mais efetiva e simples de reduzir o número de bactérias no leite é aplicando um tratamento térmico. Entretanto, a eficácia do tratamento é determinada pela temperatura e tempo de aquecimento. Dos tratamentos térmicos, o mais amplamente empregado é a pasteurização que, embora elimine completamente as bactérias patogênicas do leite, não elimina esporos de bactérias psicrotróficas, principalmente bacilos, dentre os quais, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans* e *Bacillus mycoides* que são capazes de se desenvolver em produtos refrigerados.

Existem dois tipos de pasteurização, sendo: a pasteurização lenta, na faixa de 62 a 63°C durante 30 a 35 minutos, também conhecida como pasteurização LTLT (*Low Temperature, Long Time* ou temperatura baixa, tempo longo); a pasteurização rápida, na faixa de 72 a 75°C, durante 15 a 20 segundos, também conhecida como pasteurização HTST (*High Temperature, Short Time*, ou alta temperatura, tempo curto) (SANVIDO, 2007).

Diversos binômios temperatura x tempo de pasteurização são aplicados legalmente em diversos países. A legislação brasileira estabelece que a pasteurização de leite fluido para consumo deve envolver a aplicação de um binômio de temperatura x tempo de 72-75°C/15-20 s, capaz de eliminar 100% das bactérias patogênicas e 99,9% dos micro-organismos banais. A pasteurização deve ser feita em trocador de calor a placas, dotado de painel de controle com termo-registrador e termo-regulador automáticos e válvula automática de desvio de fluxo, termômetros e torneiras de prova, seguindo-se resfriamento automático em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4°C e envase em circuito fechado (BRASIL, 2002).

A Tabela 1 apresenta uma lista de diversos países com suas legislações e regulamentos aplicáveis a leite fluido pasteurizado.

Tabela 1. Binômios temperatura x tempo de pasteurização utilizados em diversos países.

| País | Binômio temperatura / tempo |
|-------------|--|
| Alemanha | 62-65°C/30 min. no mínimo; 71-74°C/30 s no mínimo; aquecimento instantâneo a 85°C |
| Austrália | 61-65°C/30 min. no mínimo; 72-73,5°C/15 s no mínimo |
| Brasil | 62-65°C/30 min.; 72-75°C/15 s |
| Canadá | 62,8°C/30 min.; 72,8°C/16 s |
| França | 63°C/30 min. no mínimo; 72-75°C/15 s; aquecimento instantâneo a 95°C |
| Índia | 63°C/30 min. no mínimo; 71,5°C/15 s |
| Suíça | 65°C/30 min. no mínimo; 72-75°C/15-30 s; 80-90°C/4-15 s |
| Reino Unido | 62,8-65,6°C/30 min.; 71,7°C/15 s |
| USA | 63°C/30 min.; 72°C/15 s; 89°C/1,0 s; 90°C/0,5 s; 94°C/0,1 s; 96°C/0,05 s; 100°C/0,01 s |

Fonte: Staal (1986).

Define-se leite UHT ou UAT como um produto homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130°C e 150°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado, sob condições assépticas, em embalagens esterilizadas e hermeticamente fechadas (BRASIL, 1997a).

Segundo Tetra Pak (1996), UHT é uma técnica para a preservação de alimentos líquidos por meio da sua exposição ao calor intenso por um rápido período de tempo, destruindo os micro-organismos do produto.

O processo por UHT, contrariamente à interpretação corrente, não é um tratamento esterilizante, pois o termo esterilização refere-se à completa eliminação de todos os micro-organismos. A indústria alimentícia utiliza uma terminologia mais realística como a “esterilização comercial”, onde o produto não é necessariamente livre de todos os micro-organismos, porém aqueles que sobrevivem ao processo de esterilização não crescem durante a estocagem e não causam danos ao produto (PRATA, 2001; DAIRY CONSULTANT, 2002).

O tratamento UHT pode ser classificado como direto ou indireto, de acordo com o equipamento utilizado no processo. No sistema direto, o produto entra em contato direto com o meio de aquecimento, seguido de um resfriamento instantâneo em câmara de vácuo e, eventualmente, o resfriamento adicional indireto até atingir a temperatura de envase. O sistema direto é dividido em dois sistemas: de injeção de vapor (vapor injetado no produto) e de infusão de

vapor (o produto é introduzido numa câmara de vapor). O sistema de aquecimento direto apresenta uma maior agilidade no processo de aquecimento e resfriamento, o que, sem dúvida, reduz a possibilidade de mudanças físicas e químicas que poderiam ocorrer durante o tratamento “UAT” convencional (Indireto). Neste tipo de processamento direto, a qualidade do vapor utilizado se torna muito importante (TETRA PAK, 1996).

No sistema indireto, o calor é transferido de um meio de aquecimento para o produto por meio de uma parede divisória. O sistema indireto pode ser baseado em trocadores de calor a placas, tubulares ou com superfície raspada. Além disso, é possível combinar os trocadores de calor no processo indireto, de acordo com as exigências do produto e do processo (TETRA PAK, 1996).

2.4 Aspectos gerais da composição e propriedades físico-químicas do leite

Sob a legislação brasileira, entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002).

Em outra definição, o leite é uma secreção nutritiva de cor esbranquiçada e opaca, produzida pelas células secretoras das glândulas mamárias das fêmeas, devendo ser ordenhado e acondicionado em condições higiênicas e sem conter colostro (DELLANE, 2007).

O leite é rico em nutrientes essenciais para a dieta humana, como gordura, proteínas, sais minerais e vitaminas. O leite está presente diariamente na dieta humana e ganhou qualidade nos últimos anos, beneficiando-se com os avanços tecnológicos e com descobertas científicas, adaptando-se às necessidades do consumidor moderno (SILVA, 1997).

Apresenta-se como uma emulsão líquida em que a fase contínua é formada de água e substâncias hidrossolúveis ao passo que a fase interna ou descontínua é formada, principalmente, de micelas de caseína e de glóbulos de gordura (SGARBIERI, 2005).

Sendo o leite de vaca, o mais importante do ponto de vista comercial e industrial, é composto de água, 87,3%, e sólidos totais, 12,7%, assim distribuídos: proteínas totais, 3,3 a 3,5%; gordura, 3,5 a 3,8%; lactose, 4,9%; além de minerais, 0,7%, e vitaminas (SGARBIERI, 2005).

As proteínas do leite podem ser classificadas em dois grandes grupos: as caseínas e as proteínas do soro. O leite de vaca contém, aproximadamente, 3,3% de proteína, das quais 85% são constituídas pelas caseínas e 15% pelas proteínas do soro. A caseína pode ser definida como a fração da proteína do leite que sofre a precipitação em pH=4,6 a 20°C; enquanto que o restante das proteínas do leite que não sofrem precipitação é chamada coletivamente de proteínas do soro (SWAISGOOD, 1993; FARREL *et al.*, 2004).

Segundo Lobato (2000), tratando-se especialmente do conteúdo vitamínico, ressalta-se que o leite, embora contenha a maioria das vitaminas, só pode ser considerada uma boa fonte de vitamina A, riboflavina (B2) e cianocobalamina (B12), classificando-se como deficiente em vitaminas C e D e nas demais vitaminas do complexo B.

A lactose, um dissacarídeo formado por uma molécula de galactose e uma de glicose, é o principal carboidrato do leite (SANVIDO, 2007). Devido à lactose ser o principal carboidrato do leite, não há grandes variações em seus teores entre as raças bovinas. Apenas nos primeiros dias de lactação é que os teores de lactose do colostro são menores do que aos encontrados no leite (HOMAN E WATTIAUX, 1996).

2.5 Lipídeos do leite

Os lipídeos são constituídos por uma mistura de substâncias relativamente diversa, quanto a estrutura química, apresentando, como característica comum, a solubilidade em solventes orgânicos, insolubilidade em água e constituir qualitativamente e quantitativamente a fração mais variável do leite, portanto depende de um grande número de fatores, tais como, estágio de lactação, porção da ordenha, número de ordenhas, individualmente animal, raça do animal, período de lactação, idade do animal, estação do ano, alimentação, etc. (PINHEIRO e MOSQUIM, 1991).

A gordura é o componente do leite que sempre apresentou maior valor econômico, sendo utilizada como matéria-prima na produção de derivados mais nobres; contribuindo com seu valor peculiar, para melhorar a textura e imprimir sensação de riqueza aos produtos, recebendo, por estes motivos, atenção especial para efeito de pagamento do leite (PINHEIRO e MOSQUIM, 1991).

Sob o ponto de vista nutricional, a gordura apresenta níveis apreciáveis dos ácidos graxos essenciais linoléico (18:2n-6) e araquidônico (20:4n-6). O ácido linoléico (18:2n-6) não é sintetizado pelo organismo humano, enquanto o ácido linolênico e araquidônico são sintetizados, a partir do ácido linoléico (PINHEIRO e MOSQUIM, 1991).

2.6 Ácidos Graxos presentes na gordura do leite

Os lipídeos formam juntamente com os carboidratos e as proteínas, o grupo de compostos mais importante em alimentos e mais freqüentemente encontrado na natureza, tanto em vegetais como em animais (BOBBIO, 1992).

A gordura do leite é composta por triglicerídeos, reunindo uma molécula de glicerol e 3 ácidos graxos (95 a 98% do total de lipídeos), além de fosfolipídios, colesterol, ácidos graxos livres e monoglicerídeos. Os ácidos graxos do leite são também derivados de fontes de dieta, transportados para a glândula mamaria e que foram sintetizados pelas células epiteliais da mesma (CARVALHO, 2000).

A gordura presente no leite e produtos lácteos é uma das mais complexas existentes, tendo propriedades nutricionais e físicas únicas. Esta gordura pode conter acima de 400 diferentes ácidos graxos, sendo cerca de 30 os principais, na Tabela 2 está demonstrado alguns destes. Estes diferem quanto ao comprimento da cadeia carbônica, que pode variar de 4 a 24 átomos de carbono. As cadeias possuem diferentes posições das insaturações, configuração posicional, geométrica e grupos funcionais (SIMIONATO, 2008).

Segundo German e Dillard, (2006), os principais ácidos graxos distribuem-se pelas várias classes, sendo característico o elevado teor em ácidos graxos saturados, nomeadamente os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0), mirístico (14:0) e butírico (4:0). Belitz e Grosch, (1999) diz que relacionado ao teor em ácidos graxos insaturados, destacam-se os ácidos oléico (18:1c9), linoléico (18:2n-6) e α -linolênico (18:3n-3).

Tabela 2. Principais ácidos graxos presentes no leite.

| Ácido Graxo | % | Ácido Graxo | % |
|-----------------|------------|--------------------|--------------|
| Ácido Butírico | 3,0 – 4,5 | Ácido Palmítico | 25,0 – 29,0 |
| Ácido Caproíco | 1,3 – 2,2 | Ácido Esteárico | 7,0 – 3,0 |
| Ácido Caprilico | 0,8 – 2,5 | Ácido Oléico | 30,0 – 40,0 |
| Ácido Cáprico | 1,8 – 3,8 | Ácido Linoléico | 2,0 – 3,0 |
| Ácido Láurico | 2,0 – 5,0 | Ácido Linolênico | Acima de 1,0 |
| Ácido Mirístico | 7,0 – 11,0 | Ácido Araquidônico | Acima de 1,0 |

Fonte: Tetra Pak 2006

Os lipídeos ocorrem como glóbulos, com 0,1 – 20 μ m de diâmetro, envolvidos por uma membrana, o qual atua como emulsificante. A concentração de lipídeos varia com a espécie, raça, estágio de lactação, infecção mastítica, entre outros. Os lipídeos do leite exibem variação na composição dos ácidos graxos e no tamanho e estabilidade dos glóbulos. Estas variações,

especialmente no perfil de ácidos graxos, são impossíveis de serem padronizadas e por isso são responsáveis pela diferença nas propriedades reológicas, cor, estabilidade química e propriedades nutricionais de produtos lácteos que contém gordura (FOX, 2000).

Sob o ponto de vista nutritivo, a gordura pode apresentar níveis apreciáveis dos ácidos graxos essenciais linoléico e araquidônico. O ácido linoléico não é sintetizado pelo organismo humano, enquanto que o linolênico e o araquidônico são sintetizados, a partir do ácido linoléico. A proporção ácido graxo saturado/ácido graxo poli-insaturado (6:4) na gordura do leite é considerada nutricionalmente aceitável (HMSO, 1994)

A gordura é o componente do leite que apresenta maior valor energético, 9 Kcal/g, constituindo o solvente natural para as vitaminas lipossolúveis. Por imprimir um sabor peculiar ao alimento, é solicitada pelo consumidor, ou seja, o leite mais gordo é mais “saboroso”.

2.7 Ácido Linoléico Conjugado

Atualmente, há crescente demanda por produtos lácteos de alta qualidade, levando a uma tendência progressiva de adaptação, por parte da indústria leiteira, a essas exigências ditadas pelo mercado consumidor.

Durante muito tempo, a alimentação e a nutrição foram estudadas, quase exclusivamente, sob o ponto de vista da satisfação das necessidades energéticas. Hoje, outros desafios existem como seja o de considerar o papel preventivo que uma alimentação saudável pode ter no que diz respeito a determinadas patologias. Com efeito, os fatores de proteção fornecidos pelos alimentos são imensos, sobretudo no âmbito da prevenção das doenças crônico-degenerativas (ASSUNÇÃO, 2007).

A relação entre nível elevado de colesterol e doenças cardiovasculares foi primeiramente descrito no ano de 1930, desde então, diversos estudos epidemiológicos apontam o colesterol como maior fator de risco dessas doenças. Com isso, as pesquisas têm focalizado atenção na diminuição do percentual de gordura dos alimentos. Entretanto, a descoberta do CLA trouxe uma alteração nas linhas de pesquisas sobre esse tema (SANTOS, 2001).

Em sua pesquisa, Lopes (2010) pôde estimar que a disponibilidade de CLA nos domicílios brasileiros é de 108 mg g⁻¹ de gordura, usando-se como alimentos-fontes o leite de vaca e seus derivados (queijo, iogurte, creme de leite, leite condensado e manteiga) além da carne de gado bovino. Este valor ainda segundo Lopes (2010) é semelhante aos relatados nos estudos sobre o

consumo de CLA em outros países, mas esta abaixo dos valores estimados para que o CLA exerça funções benéficas para a saúde, que seria em torno de 3,5 g dia⁻¹.

Tabela 3. Estimativa da disponibilidade de CLA de gordura nos domicílios brasileiros

| | Consumo anual per capita (Kg) | Consumo anual per capita de gordura (g) | Consumo anual per capita de CLA (g g ⁻¹ gordura) | Estimativa da disponibilidade per capita de CLA (mg g ⁻¹ de gordura) |
|------------------|-------------------------------|---|---|---|
| Leite Integral | 44,33 | 1330,00 | 7,31 | |
| Queijo | 1,79 | 357,20 | 1,75 | |
| Iogurte | 1,97 | 59,01 | 0,19 | |
| Manteiga | 0,32 | 265,68 | 1,24 | 108,00 |
| Margarina | 1,62 | 1226,50 | 1,50 | |
| Creme de leite | 0,30 | 91,08 | 0,05 | |
| Leite condensado | 0,53 | 46,11 | 0,01 | |
| Carne de Gado | 16,90 | 2533,65 | 10,90 | |

Fonte: Lopes 2010.

Segundo Carvalho (2000), é crescente o interesse em se alterar a composição do leite visando incorporar os chamados nutrientes funcionais que agregam valor ao produto. São exemplos ácidos linoléico conjugados (CLA), ômega-3, proteínas especiais, etc.

Segundo Visentainer e Franco (2006), 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.

Os teores de ácidos graxos *trans* aparecem em pequenas quantidades nos ácidos graxos dos óleos e gorduras vegetais, em teores relativamente maiores em óleos e gorduras de origem animal e em grandes quantidades em gorduras modificadas pelo processo de hidrogenação (VISENTAINER E FRANCO, 2006).

Segundo SIMIONATO (2008), estudos em homens mostram que dietas com Ácidos Graxos *Trans* (AGT) estão negativamente relacionadas com a concentração de lipoproteínas de alta densidade (HDL), enquanto estão positivamente relacionadas com a concentração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL).

A gordura *trans* presente no leite, o ácido vacênico (18:1n7t), é precursora de ácidos graxos específicos de ruminantes, como os ácidos linolêicos conjugados, (SIMIONATO, 2008). LEITE (2006) refere-se ao CLA como uma classe de isômeros posicionais e geométricos do ácido linolêico que possui duas insaturações alternadas por uma ligação simples, ao contrário do linolêico, onde as insaturações são separadas por uma ligação metilênica. Há 56 possíveis isômeros geométricos e de posição do CLA.

O CLA em leite de ruminantes surge direta e indiretamente da hidrogenação microbiana de ácidos graxos poli-insaturados no rúmem. O CLA é formado no rumem por bactérias anaeróbias constantes na flora ruminal, como um intermediário da biohidrogenação do ácido linolêico e da desnaturação do ácido vacênico na glândula mamária via Δ -9-dessaturase (PRANDINI, 2007). O teor de CLA na gordura do leite geralmente se encontra entre 0,3 e 1,0%. (FANTI *et al.*, 2008)

Segundo Clement *et al.*(1994), essas bactérias poderão não ser as únicas fontes de biossíntese de CLA, porque tem sido encontrado CLA em animais não ruminantes como porco, galinha, peru e em peixes.

As principais fontes dietéticas de CLA são o leite e carne de ruminantes e seus derivados, sendo que os primeiros isômeros de CLA que têm sido relacionados com benefícios a saúde são o cis-9; trans-11 e o trans-10 cis-12. (KHANAL *et al.* 2005). O isômero mais relacionado à atividade anticarcinogênica é o C18:2 cis-9; trans-11, e o implicado no metabolismo de gordura é o C18:2 trans-10; cis-12.

Mougios *et al.* (2001) suplementaram a dieta de 14 homens e 10 mulheres utilizando CLA. Como resultado, foi verificada redução de triglicerídeos e LDL-colesterol nos indivíduos que receberam CLA, mas também ocorreu uma diminuição significativa nos níveis de HDL-colesterol.

Sebedio *et al.*(1999) relatam diversos estudos usando diferentes modelos animais onde relacionam o CLA a vários outros efeitos positivos que poderiam favorecer a saúde humana, incluindo a redução de arterosclerose, prevenção e tratamento do *diabetes mellitus* não dependente da insulina, propriedades antitrombóticas e efeitos imuno-estimulatórios.

O isômero mais abundante é o cis 9 trans 11 que em produtos lácteos correspondem a uma faixa de 75 a 90% do total de CLA na gordura do leite. Este isômero de CLA foi estabelecido como tendo propriedades anticarcinogênicas quando incluído como suplemento ou consumido como componente natural de alimentos (KELSEY *et al.*, 2003).

A variação do conteúdo de CLA na gordura do leite esta associada com vários fatores: estagio de lactação, paridade e raça. A dieta é um outro fator importante que afeta mais significativamente o teor de CLA na gordura do leite, sendo que o mais alto nível de CLA na gordura do leite foi obtido em pastos frescos ou dieta suplementada de vegetais ricos em ácidos

graxos poli-insaturados. (PRANDINI, 2007). O conteúdo de CLA em derivados do leite, como iogurte, é reflexo da matéria-prima que lhe deu origem.

Segundo SIMIONATO (2008), uma forma de analisar ácidos graxos em alimentos é utilizado a cromatografia em fase gasosa (CG). Para tal, faz-se necessária a derivatização clássica, ou seja, 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.

2.8 Quantificação de ácidos graxos no leite por cromatografia em fase gasosa

A cromatografia é um conjunto de métodos de separação com características básicas comuns. As separações envolvem o transporte dos componentes de uma mistura líquida ou gasosa através de uma coluna ou algum equivalente físico. A coluna contém um material, em forma de fase estacionária, que consiste em um agente sólido adsorvente ou um agente líquido distribuidor. Em virtude do retardamento seletivo exercido pela fase estacionária, os componentes da mistura se movimentam através da coluna a diferentes velocidades efetivas e a migração diferencial tende a segregar os componentes em zonas ou bandas separadas (VISENTAINER E FRANCO, 2006).

Na cromatografia em fase gasosa (CG), como o seu nome indica, a fase móvel é um gás e por isso os componentes a separar devem se encontrar no estado gasoso. Nas análises de substâncias líquidas deve-se vaporizar a mistura, o que seria um limitante ao método, pois só seria possível analisar por cromatografia gasosa compostos que pudessem se volatilizar nas condições de operação dos equipamentos. Entretanto, o número de compostos que podem ser analisados é enorme (VISENTAINER E FRANCO, 2006).

O desenvolvimento inicial da cromatografia a gasosa está interligado com a análise de lipídeos. Esta técnica de separação superou no decorrer dos anos outras técnicas, especialmente com relação aos ácidos graxos e pode ser considerada como a principal responsável pelo conhecimento da composição dos lipídios nos últimos anos (VISENTAINER E FRANCO, 2006).

Estes avanços tiveram um grande impacto no estudo dos ácidos graxos, contribuindo, entre outros aspectos, para a investigação mais detalhada sobre a existência de isômeros posicionais e geométricos com funções biológicas distintas, que antes não haviam sido separados ou identificados (SIMIONATO, 2008).

A CG é a técnica que mais tem sido aplicada ao estudo dos ácidos graxos, devido principalmente ao desenvolvimento de fases estacionárias que possibilitam a separação dos diversos isômeros posicionais e geométricos existentes na mistura (SIMIONATO, 2008).

Segundo TVRZICKÁ *et al.*(2002), 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 20 número de carbono e insaturação. 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).

Para análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos, são utilizadas geralmente colunas com 50 a 100 m de comprimento, contendo fase estacionária de elevada polaridade, constituída de cianoalquil polisiloxano. 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, 1998).

Para a análise de ésteres metílicos por cromatografia gasosa, o detector de ionização de chama (DIC) é o mais utilizado, pois apresenta uma quantidade mínima detectável de aproximadamente 10^{-12} g, uma resposta quase universal, faixa de linearidade ampla, é simples de operar e de resposta rápida (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 (MILINSK, 2007).

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. 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).

A escolha do padrão interno é de grande importância para a quantificação dos ácidos graxos. O padrão interno deve eluir numa região próxima dos ácidos graxos de interesse, ser estável e não co-eluir com outros ácidos graxos (KUS, 2009).

A quantificação dos lipídios nos alimentos é realizada, tradicionalmente, por extração com solventes orgânicos (éter etílico, éter de petróleo, clorofórmio e metanol) e determinação gravimétrica. A habilidade de recuperar os vários componentes dos lipídios varia com o solvente de extração. Solventes mais polares como clorofórmio/metanol extraem lipídios polares, incluindo fosfolipídios, esteróis, terpenos, graxas, hidrocarbonetos e materiais não lipídicos (KUS, 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Verificar como os tratamentos térmicos de pasteurização e esterilização comercial por processo de troca indireta influem nas características físico-químicas e perfil lipídico de leite bovino.

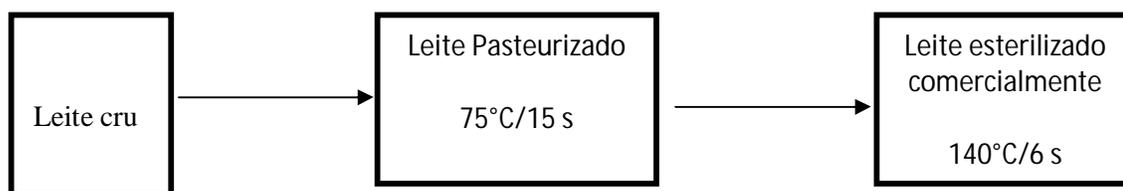
3.2 Objetivos específicos

- Determinar os parâmetros físico-químicos: acidez (°Dornic), extrato seco total (%), extrato seco desengordurado (%), pH, crisoscopia (°H), gordura (%), lactose (%) e proteína (%) dos leites submetidos aos diferentes processos térmicos.
- Extrair os lipídios presentes no leite e quantificar os ácidos graxos presentes nas amostras;
- Avaliar a influência dos tratamentos térmicos sobre os ácidos graxos presentes nas amostras citadas acima.

4 Material e Métodos

4.1 Amostragem

Foram coletadas 11 amostras de leite em um laticínio do município de Itapetinga-BA em diferentes períodos do ano (setembro a novembro) de 2010. As amostras coletadas foram pertencentes ao mesmo lote de coleta, ou seja, o leite esterilizado era o leite pasteurizado que, por conseguinte era o leite cru. Após o recolhimento, os frascos e embalagens contendo leite UHT, foram devidamente analisadas na unidade fabril e posteriormente encaminhadas para o Laboratório de Pesquisas em Química (NUPESQ) para extração dos lipídios e posterior preparação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos.



4.2 Procedimento Experimental

4.2.1 Análises Físico-Químicas

Foram realizadas determinações da acidez titulável pelo método Dornic, da densidade, do teor de gordura pelo método Gerber, do teor de extrato seco total e do extrato seco desengordurado, através do calculador de Ackerman, do índice crioscópico pelo lactocrioscópio eletrônico digital, do pH em pHgâmetro, (BRASIL, 1981) da proteína e lactose em equipamento Milkanalyser da Beocolac Germenay.

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 $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ em metanol – dietil éter (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 iso-octano 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.

4.2.3 Identificação e quantificação dos ésteres metílicos

A análise cromatográfica foi conduzida utilizando um cromatógrafo em fase gasosa Thermo-Finnigan, equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida BPX-70 (120m, 0,25mm d.i). Os parâmetros de operação estabelecidos após verificação da melhor condição de resolução foram: temperaturas do injetor e detector, 250°C e 280°C respectivamente. A temperatura da coluna foi programada a 140°C por 10 minutos, seguindo por uma primeira rampa de $15^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até atingir 200°C por 1 minuto. A segunda rampa foi de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até atingir 230°C por 1 minuto. A terceira rampa $0,4^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até atingir 233°C por 3 minutos. A quarta rampa $0,5^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até atingir 238°C por 2 minutos. O tempo total de análise foi de 41,50 minutos.

As vazões dos gases (White Martins), foram de 30 mL min^{-1} para o hidrogênio, 30 mL min^{-1} para o nitrogênio e 250 mL min^{-1} para o ar sintético.

As injeções foram realizadas em duplicata e os volumes de injeção foram de $1,2 \mu\text{L}$. As áreas dos picos dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinadas através do software ChromQuest 4.1.

4.2.4 Identificação dos ésteres metílicos

A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada por comparação de tempo de retenção dos constituintes da amostra com uma mistura de 37 padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (189-19 Sigma, EUA) e por comparação com os tempos de retenção com os ésteres metílicos de padrões contendo os isômeros geométricos c9-t11 e t10-c12 do ácido linoléico (O-5632 Sigma, EUA).

4.2.5 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 constituída de padrões (Sigma) de ésteres metílicos de ácidos graxos em concentração conhecida, sendo calculado através da Equação 1, conforme método proposto por Ackman (1972). Os fatores foram obtidos a partir da média de quatro repetições:

$$F_R = \frac{A_{23:0} \cdot C_X}{A_X \cdot C_{23:0}} \quad (\text{Eq.1})$$

Em que:

F_R = Fator de resposta em relação ao tricosanoato de metila;

$A_{23:0}$ = área do tricosanoato de metila;

C_X = concentração de ésteres metílicos de ácidos graxos

A_X = área do éster metílico de ácido graxos

$C_{23:0}$ = concentração tricosanoato de metila;

4.2.6 Quantificação dos ésteres metílicos

A quantificação dos ácidos graxos, em mg g^{-1} de lipídeos totais, foi efetuada em relação ao padrão interno, tricosanoato de metila (23:0), Sigma. Antes da transesterificação, adicionou-se 1,00 mL da solução do padrão interno (1 mg mL^{-1}) em todas as amostras, e o solvente foi evaporado sob fluxo de N_2 .

Os cálculos da concentração dos ácidos graxos contidos nas amostras foram realizados conforme Visentainer e Franco (2006), pela Equação 2:

$$C (\text{mg g}^{-1}) = \frac{A_X \cdot M_{23:0} \cdot F_{RT}}{A_{23:0} \cdot M_A \cdot F_{CT}} \quad (\text{Eq.2})$$

onde:

A_X = área dos ésteres metílicos dos ácidos graxos

$A_{23:0}$ = área do padrão interno;

$M_{23:0}$ = massa do padrão interno adicionado a amostra (em miligramas);

M_A = massa da amostra (em gramas);

F_{RT} = fator de resposta teórico dos ésteres metílicos de ácidos graxos;

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

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises químicas

As médias das características físico-químicas (Tabela 4) dos leites *in natura*, e dos leites submetidos a diferentes tratamentos térmicos, sendo a pasteurização por um binômio tempo temperatura de 75°C por 15 s e esterilização comercial por processo de troca de calor indireta por um binômio tempo temperatura de 140°C por 6 s, coletadas em diferentes semanas foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Características físico-químicas dos leites *in natura* e dos leites submetidos a diferentes tratamentos térmicos.

| Tratamento | Acidez °D | pH | Lactose % | Proteína % | EST ¹ % | ESD ² % | Crioscopia °H | Gordura % |
|------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Leite <i>in natura</i> | 14,227 ^a | 6,730 ^a | 4,616 ^a | 3,144 ^a | 12,292 ^a | 8,620 ^a | -0,538 ^a | 3,654 ^a |
| Leite Pasteurizado | 14,373 ^{ab} | 6,715 ^{ab} | 4,582 ^{ab} | 3,132 ^{ab} | 12,209 ^{ab} | 8,639 ^{ab} | -0,534 ^a | 3,570 ^{ab} |
| Leite UHT | 14,818 ^b | 6,777 ^b | 4,315 ^b | 2,937 ^b | 11,502 ^b | 8,432 ^b | -0,542 ^a | 3,070 ^b |

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).¹EST=Extrato seco total.

²ESD=Extrato seco desengordurado.

A legislação brasileira estabelece padrões físico-químicos para o leite *in natura*, de forma que ele possa ser considerado apto para o consumo e de boa qualidade. Assim, os padrões físico-químicos para o leite *in natura* e para o leite pasteurizado, sendo, no mínimo, 3% de gordura, acidez entre 14 e 18 °D, índice crioscópico máximo de -0,530 °H, no mínimo 11,5% de EST, no mínimo 8,4% de ESD (BRASIL, 1997b). Os dados referentes à Tabela 4 indicam que, nas análises referentes ao leite *in natura* e leite pasteurizado, todos os parâmetros exigidos pela legislação vigente se encontram dentro dos padrões, não havendo diferença significativa quanto ao leite pasteurizado e ao leite *in natura*.

Os dados obtidos demonstram ainda que houve uma influência significativa quanto ao tratamento térmico relacionados ao leite *in natura* e ao leite UHT, isto é demonstrado com a redução de três compostos do leite: a lactose, proteína e lipídios.

Quanto à lactose, WALSTRA & JENNESS (1984) descreveram a decomposição da lactose formando ácidos orgânicos, principalmente ácidos fórmicos e lácticos, onde se observa esta reação principalmente a temperaturas acima de 100°C. Sendo o leite UHT submetido a esta temperatura de tratamento térmico para que se obtenha a vantagem de produto comercialmente estéril, justifica-se a redução da lactose.

A redução do teor protéico após tratamento térmico pode ter ocorrido devido a desnaturação da β – lactoglobulina (β -Lg) a 80°C. Esta é mais afetada por um processo de esterilização por troca de calor indireta. Entretanto, esta redução não causa, necessariamente, prejuízos na qualidade nutricional e existem fortes evidências, a partir de testes com ratos, que o processamento UHT não causa alterações mensuráveis no valor biológico ou na digestibilidade real nem na capacidade de promover o crescimento (SILVA E PERRONE 2007).

Outro fator referente a redução nos teores de lactose e proteínas do leite *in natura* para o leite UHT é a reação de Maillard, onde esta se inicia quando o aquecimento ultrapassa 80°C.

No caso do percentual de gordura do leite UHT, houve uma significativa redução devido a de padronização do gordura por processo de centrifugação.

A Tabela 4 demonstra que, comparando-se o leite *in natura* com o leite UHT tratado termicamente por 140°C por 6s houve um contraste entre o aumento do teor de acidez do leite e aumento no pH. Segundo SILVA (2003), a elevação da acidez ocorre pela degradação térmica da lactose à temperaturas acima de 100°C. Entretanto, TSILOULPAS *et al.* (2010) relatam em seu trabalho, que o aumento do pH para o leite UHT, se deve a estabilização do mesmo com sais estabilizantes, sendo um o citrato de sódio que reduz disponibilidade de cálcio, aumentando também a estabilidade térmica do leite ao etanol (CHAVEZ *et.al.*, 2004) .

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997), o leite UHT deve atender as seguintes características sensoriais: aspecto líquido, cor branca, odor e sabor característicos, sem sabores nem odores estranhos e as seguintes características físico-químicas para o leite integral: no mínimo 3% de gordura, acidez entre 14 e 18 °D, estabilidade ao álcool de 68% e, no mínimo, 8,2% de desengordurado (ESD).

Observou-se uma redução significativa da lactose, proteína e gordura, quando comparado com o leite *in natura*, a composição do leite UHT integral deste experimento atendem os padrões exigidos pela legislação.

5.2. Quantificação dos ácidos graxos

Com a finalidade de avaliar a interferência do tratamento térmico sobre os ácidos graxos presentes na gordura do leite, foi realizada uma análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos os quais, foram tentativamente identificados e quantificados 27 ácidos graxos presentes na gordura dos leites analisados.

Após análise, os ácidos graxos foram separados em saturados, poli-insaturados e conjugados. A Tabela 5 apresenta os ácidos graxos saturados encontrados nas amostras.

Tabela 5. Ácidos Graxos Saturados em mg.g⁻¹ de lipídios para leite *in natura*, pasteurizado e esterilizado.

| Ácido Graxo ¹ | Leite <i>in natura</i> | Leite Pasteurizado | Leite Esterilizado | CV ² |
|--------------------------|------------------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| Butírico 4:0 | 34,25 ^a | 31,38 ^{ab} | 23,36 ^b | 38,59 |
| Capróico 6:0 | 21,29 ^a | 19,93 ^a | 14,70 ^b | 37,53 |
| Caprílico 8:0 | 11,77 ^a | 10,81 ^{ab} | 8,39 ^b | 37,99 |
| Cáprico 10:0 | 22,46 ^a | 20,71 ^{ab} | 17,09 ^b | 32,68 |
| Láurico 12:0 | 25,52 ^a | 23,03 ^{ab} | 19,35 ^b | 30,98 |
| Tridecílico 13:0 | 0,84 ^a | 0,98 ^a | 0,64 ^a | 61,53 |
| Mirístico 14:0 | 93,78 ^a | 82,31 ^{ab} | 72,60 ^b | 29,30 |
| Pentadecílico 15:0 | 13,80 ^a | 12,03 ^{ab} | 10,90 ^b | 27,40 |
| Palmítico 16:0 | 251,73 ^a | 222,40 ^a | 198,61 ^a | 24,82 |
| Margárico 17:0 | 8,07 ^a | 7,08 ^{ab} | 6,71 ^b | 25,00 |
| Esteárico 18:0 | 103,93 ^a | 89,38 ^{ab} | 83,41 ^b | 22,16 |
| Araquídico 20:0 | 1,66 ^a | 1,41 ^{ab} | 1,31 ^b | 26,73 |

¹Nomenclatura usual, ²Coefficiente de variação; Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

Na Tabela 5 observa-se que não houve diferença significativa (p>0,05), entre os ácidos graxos presentes nas amostras de leite *in natura* e leite pasteurizado e entre o leite pasteurizado e o leite UHT, exceto pelos ácidos graxos tridecílico (13:0) e pelo ácido palmítico (16:0), que não houve diferença significativa entre as amostras.

Em seu trabalho, SOUZA (2003) avaliou a composição e perfil de ácidos graxos do leite de vaca *in natura* e pasteurizado em minilaticínios, e também não encontrou diferença significativa (p>0,05) para a influência do tratamento térmico (pasteurização) sobre o leite *in natura*.

O perfil do cromatograma para o leite *in natura* pode ser visualizado na Figura 1.

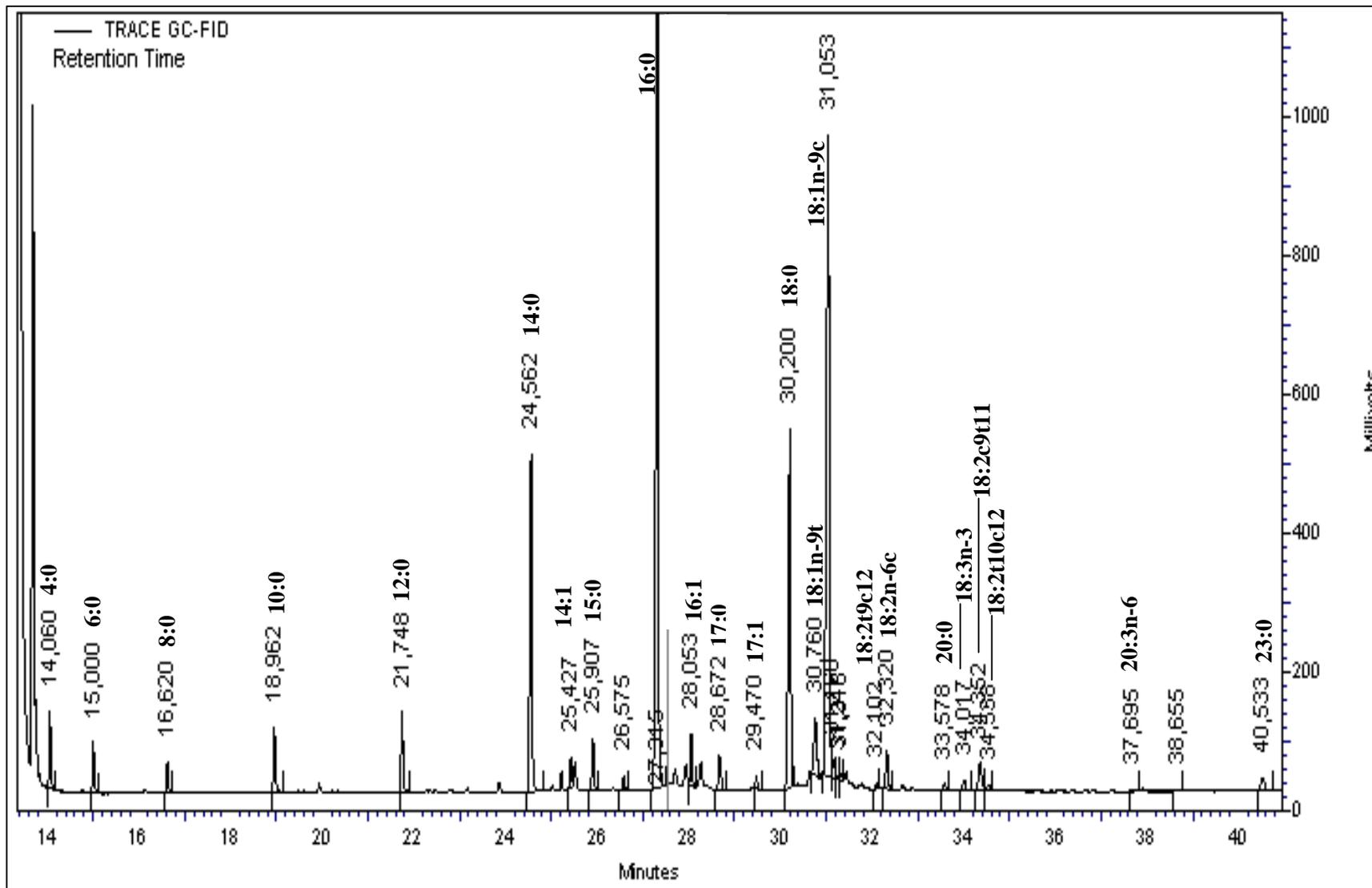


Figura 1. Cromatograma de uma das amostras de leite *in natura* analisado.

Os ácidos graxos mais abundantes nos leites *in natura*, pasteurizado e UHT foram os 16:0, esteárico (18:0) e mirístico (14:0) respectivamente conforme demonstrado na Tabela 5. Sendo que apesar de não haver diferença significativa ($p>0,05$), para o 16:0 houve uma redução de 21,10% do leite *in natura* o leite UHT. Quanto ao 18:0 e 14:0 também houve uma redução do leite *in natura* para o leite UHT ao nível de 19,74% e 22,56% respectivamente o que pode provavelmente demonstrar a degradação pelos tratamentos térmicos sucessivos, pasteurização (75°C por 15 segundos) e esterilização comercial por processo indireto de troca térmica (140°C por 6 segundos).

O'BREIN (2003) relata que a gordura do leite tem como característica a presença de ácidos graxos de cadeia curta e elevada proporção de ácidos graxos saturados, sendo que as porcentagens médias encontradas de 18:0, 16:0, 12:0, 10:0, 8:0, 6:0 e 4:0, são, respectivamente, 12,1%, 26,9%, 10,8%, 2,9%, 2,5%, 1,2%, 2,2% e 3,6%. Dados estes semelhantes aos encontrados em todos os leites analisados (*in natura*, pasteurizado e esterilizado comercialmente).

A Tabela 6 demonstra os ácidos graxos mono e poli-insaturados das amostras analisadas, observa-se que não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre o leite *in natura* e o leite pasteurizado, resultado este também encontrado por Souza (2003).

Tabela 6. Ácidos Graxos mono e poli-insaturados em mg g⁻¹ de lipídios para leite *in natura*, pasteurizado e esterilizado.

| Ácido Graxo ¹ | | Leite <i>in natura</i> | Leite Pasteurizado | Leite Esterilizado | CV ² |
|------------------------------------|-----------|------------------------|----------------------|---------------------|-----------------|
| Miristoléico | 14:1 | 8,99 ^a | 7,95 ^{ab} | 7,01 ^b | 26,25 |
| Palmitoleico | 16:1 | 12,13 ^a | 11,01 ^{ab} | 9,52 ^b | 30,15 |
| 10-heptadecenoico | 17:1 | 5,60 ^a | 4,08 ^b | 3,78 ^b | 38,96 |
| Elaidico | 18:1n-9t | 25,51 ^a | 19,46 ^b | 18,48 ^b | 29,13 |
| Oléico | 18:1n-9c | 216,65 ^a | 187,50 ^{ab} | 170,61 ^b | 23,62 |
| Ácido Vacênico | 18:1n-7t | 9,47 ^a | 8,47 ^a | 7,84 ^a | 55,75 |
| Ácido cis Vacênico | 18:1n-7c | 5,28 ^a | 3,58 ^{ab} | 2,67 ^b | 76,99 |
| Linolelaídico | 18:2n-6t | 5,56 ^a | 4,47 ^{ab} | 3,66 ^b | 52,86 |
| Ácido Trans-9, cis-12 octadienóico | 18:2t9c12 | 2,54 ^a | 1,99 ^a | 2,26 ^a | 37,04 |
| Gama-Linoléico | 18:2n-6 | 8,01 ^a | 6,96 ^{ab} | 6,41 ^b | 21,30 |
| Alfa-Linolênico | 18:3n-3 | 3,82 ^a | 3,38 ^{ab} | 3,10 ^b | 24,78 |
| Di-homo-gama-linolênico | 20:3n-6 | 11,99 ^a | 10,33 ^{ab} | 9,26 ^b | 25,03 |

¹ Nomenclatura usual, ² Coeficiente de variação; Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Quanto a diferença existente entre o leite *in natura* e leite UHT houve uma redução numa faixa de 10,82% a 49,38% (0,24 a 46,04 mg g⁻¹), o que também demonstra a ação sucessiva dos tratamentos térmicos sobre os ácidos graxos.

Tabela 7. Ácidos Graxos linolêicos conjugados em mg g⁻¹ de lipídios para leite *in natura*, pasteurizado e esterilizado.

| Ácido Graxo ¹ | | Leite <i>in natura</i> | Leite Pasteurizado | Leite Esterilizado | CV ² |
|---------------------------|-----------|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| Ácido Linolêico Conjugado | CLAc9t11 | 10,18 ^a | 8,82 ^{ab} | 7,96 ^b | 24,02 |
| Ácido Linolêico Conjugado | CLAt10c12 | 0,78 ^a | 0,81 ^a | 0,54 ^a | 57,16 |

¹Nomenclatura usual, ²Coefficiente de variação;

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey (p>0,05).

Não houve diferença significativa (p>0,05) entre os ácidos linolêicos conjugados relacionados aos tratamentos térmicos, mas houve uma redução significativa entre o leite *in natura* e o leite UHT, na ordem de 21,89% para o CLAc9t11 (2,23 mg g⁻¹) e de 30,24% (0,24 mg g⁻¹). HERZALLAH (2005) relatou que no leite UHT sofrendo um tratamento térmico a 140°C por 4 segundos houve um decréscimo nos níveis de CLA quando comparado com leite *in natura* e leite pasteurizado por processo HTST e por processo LTLT, confirmando os dados obtidos. Segundo o mesmo autor a tendência na redução de CLA poderia ser atribuída pela a oxidação resultando em hidroperóxidos que poderiam causar a conversão ou degradação do CLA.

Fanti *et. al* (2008) relatam que o teor de CLA na gordura do leite geralmente se encontra entre 0,3 e 1%. Os dados encontrados neste trabalho são superiores a estes, mas são próximos aos de Kelsey e colaboradores (2003), que relataram também que o isômero mais abundante é o cis-9- trans-11, que em produtos lácteos correspondem a uma faixa de 75 a 90% do total de CLA na gordura do leite. A diferença encontrada nos conteúdos dos ácidos linolêicos conjugados pode-se dever a: estação do ano, alimentação e a ração animal, estagio de lactação e o processamento térmico (PRANDINI *et. al*, 2007).

Observa-se também que o CLA mais abundante é o CLAc9t11 representando valores acima de 90%, dado semelhante ao de KÜHLSSEN *et al.* (2005), onde o mesmo relata que 90% do CLA em gordura de ruminantes é representada pelo CLAc9t11.

Na tabela 8 consta os somatórios dos ácidos graxos saturados (4:0, 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0), monosaturados (14:01, 16:01, 17:01, 18:1n9t, 18:1N9, 18:1n7t, 18:1n7c), insaturados (18:2n6T, 18:2t9c12, 18:2n-6, 18:3n-3, CLAc9t11, CLAt10c12, 20:3n-6), relação entre ácidos graxos insaturados e saturados, ômega 3 (18:3n-3, 20:3n-3), ômega 6 (18:2n-6, 20:3n-6) e a relação entre os ácidos graxos da família n-6 e n-3 (n-6/n-3).

Tabela 8. Totais de ácidos graxos saturados, mono e insaturados, relação ácido graxo insaturado/saturado, ômega 3, ômega 6 e relação entre ômega 6 e ômega 3 em mg g⁻¹ de lipídios para leite *in natura*, pasteurizado e esterilizado.

| Ácido Graxo ¹ | Leite <i>in natura</i> | Leite Pasteurizado | Leite Esterilizado | CV ² |
|--------------------------|------------------------|----------------------|---------------------|-----------------|
| SATURADOS | 589,08 ^a | 521,44 ^{ab} | 457,08 ^b | 26,06 |
| MONOSATURADOS | 283,63 ^a | 242,06 ^{ab} | 219,91 ^b | 23,53 |
| POLI-INSATURADOS | 33,77 ^a | 28,85 ^{ab} | 26,16 ^b | 24,52 |
| AGPI/AGS ³ | 0,06 ^a | 0,05 ^a | 0,06 ^a | 13,28 |
| n-3 | 4,60 ^a | 4,19 ^{ab} | 3,65 ^b | 24,86 |
| n-6 | 9,07 ^a | 7,86 ^{ab} | 7,32 ^b | 20,03 |
| n-6/n-3 | 2,10 ^a | 1,97 ^a | 2,07 ^a | 10,72 |

¹Nomenclatura usual ²Coefficiente de variação; ³Relação ácidos graxos poli-insaturados/saturados. Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey (p>0,05).

Observa-se que não houve diferença significativa (p>0,05) para os somatórios dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados e a relação entre ácidos graxos ácidos graxos poli-insaturados/saturados entre o leite *in natura* e leite pasteurizado.

Souza (2003) encontrou resultados semelhantes e cita em seu estudo que, a gordura do leite contém ácidos graxos derivados da síntese de novo pela glândula mamária (4:0 a 14:0 mais uma porção de 16:0) e dos ácidos graxos pré-formados na saída da glândula mamária (uma porção de 16:0 e todas as cadeias mais longas de ácidos graxos), sendo os lipídios do tecido adiposo dos ruminantes geralmente mais saturados do que os lipídios do tecido dos não-ruminantes, devido à biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados no rúmen.

Quanto aos ácidos graxos insaturados, a redução do leite *in natura* para leite pasteurizado tanto do leite *in natura* para leite UHT confirma o que Ford e Thompson (1981), relata que não há alterações de importância nutricional no teor de lipídios, minerais e carboidratos no processamento UHT, embora possa haver alguma perda de ácidos graxos insaturados nos lipídeos lácteos.

Após o tratamento térmico as razões n-6/n-3 diminuíram o que é bom, pois, quanto menor a relação entre estes ácidos graxos melhor é o que Simopoulos (2006) sugere que esta razão não deve ultrapassar 4. O Departamento de Saúde da Inglaterra (1994) sugere que a razão da ingestão de Ômega-6 e Ômega-3 esteja entre 5 e 10, mas não houve diferença significativa entre leite *in natura*, leite pasteurizado e leite UHT.

6 CONCLUSÕES

- As análises físico-químicas dos leites avaliados se encontram dentro dos padrões do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
- Quanto a quantificação dos ácidos graxos nos lipídeos do leite não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos térmicos (pasteurização e esterilização), mas houve uma redução significativa entre o leite *in natura* e o leite UHT demonstrando a ação do tratamento térmico sobre o leite.
- O tratamento térmico UHT reduz significativamente o teor de CLA com relação ao leite *in natura*. Sendo assim, caso haja o interesse da indústria no lançamento de um leite enriquecido com CLA, deve-se observar a influência do tratamento térmico.

Referências

- ABRANCHES Monise Viana, Ceres Mattos DELLA LUCIA. PERDAS DE VITAMINAS EM LEITE E PRODUTOS LÁCTEOS E POSSÍVEIS MEDIDAS DE CONTROLE Alim. Nutr., Araraquara v.19, n.2, p. 207-217, abr./jun. 2008
- ACKMAN, R.G. The analyses of fatty acids and related materials by gás-liquid chromatography. Progress in the Chemistry of fats & Other lipids, 12: 165-284, 1972.
- ACS – American Chemical Society. Guidelines for data acquisition and data quality evolution in Enviromental Chemistry, 52: 175-192, 2002
- ALVES, D. O. R. . Industrialização e comercialização do leite de consumo no Brasil. In: Fernando H. Madalena; Leovegildo L. Matos; Evandro V. Holanda Jr.. (Org.). Produção de leite e Sociedade. Belo Horizonte: FEPMVZ - Editora, 2001, v. 1, p. 75-83.
- ANDRÉ GUEDES, Zélia Therezinha Custódio Leite*, Delmo Santiago Vaitsman e Paulo Bechara Dutra. Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade - Quim. Nova, Vol. 29, No. 4, 876-880, 2006
- ASSUNÇÃO, José Miguel Pestana. Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos Açores. MESTRADO EM CONTROLO DA QUALIDADE E TOXICOLOGIA DOS ALIMENTOS. Lisboa 2007
- AIRES, Georgiana Sávia Brito. Avaliação de diferentes tratamentos térmicos e condições de embalagem sobre a vida-de-prateleira / Georgiana Sávia Brito Aires. – Campinas, SP: [s.n.], 2007. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos
- BANNON, C.D., Breen, G.J., Craske, J.D., Hai, N.T., Harper, N.L., O'Rourke, K.L. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. Journal of Chromatography, 247: 71-89, 1982.
- BELITZ, H.D. e GROSCH W. (1999) – Chapter 10: Milk and dairy products. In: Food Chemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1999. p. 484-486.
- BIZARI, P.A. Eficiência da contagem microscopia na avaliação da qualidade pregressa da matéria-prima utilizada no processamento de leite UAT. (Ultra Alta Temperatura). Jaboticabal: UNESP, 2002. 53p. (Dissertação MS).
- BOBBIO, Florinda Orsati. Introdução à química dos alimentos. / Florinda o. Bobbio, Paulo A. Bobbio. 2. Ed. 1. Reimpr. – São Paulo: Livraria Varela, 1992.
- BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Portaria n. 370, de 4 de setembro de 1997. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do leite UHT (UAT). Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, n. 172, 8 set. 1997a. Seção I.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 451, 19 de setembro de 1997. Regulamentos técnicos. Princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 22 set. 1997b. Seção 1, p. 21005-210112.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA. Métodos Analíticos para o Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes – Métodos Físico-Químicos. Diário Oficial da União, Brasília, 1981, p. XIV1-22.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/segisleg-consulta/consultarlegislacao>> Acesso em: 07 de maio 2010.

BRITO, M. A. *et al.* Composição do leite. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html>. Acesso em: 22 fevereiro. 2011

CARVALHO, Marcelo Pinheiro de. Manipulando a composição do leite: gordura. 1º Curso online sobre a qualidade do leite. Milkpoint. 2000.

CHAVEZ, M. S.; *et.al.* Bovine Milk composition parameters affecting the ethanol stability. Journal of Dairy Research v. 71, p. 1-6, 2004

CHRISTIE, W.W. Some recent advances in the chromatographic analysis of lipids. Analysis, 26: 34-40, 1998.

CLEMENT IP, Meenakshi Singh, Henry J. Thompson, and Joseph A. Scimeca. Conjugated Linoleic Acid Suppresses Mammary Carcinogenesis and Proliferative Activity of the Mammary Gland in the Rat. CANCER RESEARCH 54. 1212-1215, March, 1994

DAIRY CONSULTANT. UHT Basics. Disponível em: <http://www.dairyconsultant.co.uk/pages/uht_Process.htm>, Acesso em 03/06/2010.

DELLANE, L. Qualidade do leite e manejo sanitário de vacas em lactação. Novembro, 2007. Monografia (Graduação em Zootecnia).

FANTI, ET. AL Michele Gabriela Nogueira; Contribuição ao estudo das características físico-químicas e da fração lipídica do leite orgânico. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 28(Supl.): 259-265, dez. 2008

FARREL, H.M.; ET.al. Nomenclature of the proteins of cows-milk-sixth revision. Journal of dairy science, Champaign, v. 87, p 1641 – 1674. 2004

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.

FONSECA, L. F.L. da SANTOS M. V. da. Conceitos básicos sobre composição do leite e métodos utilizados. 1º Curso online sobre qualidade do leite. Milkpoint. 2000.

- FORD, J.E.; THOMPSON, S. Y.; The nutritive value of UHT milk. In: International Dairy Federation. New monograph on UHT milk. Brussels, 1981.
- FOX, P. F. The major constituents of milk. In: SMIT, G. Dairy processing – Improving quality. Boca Raton: CRC Press, p. 5-38, 2000
- FREEDMAN, B.; Kwolek, W. F.; Pryde, E. H. (1986). Quantitation in the analysis of transesterified soybean oil by capillary gas chromatography. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 63 (10), 1370-1375.
- GERMAN, B.J. e DILLARD, J.C. (2006) - Composition, structure and absorption of milk lipids: A source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46 (2006) 57-92.
- HARDING, F. Compositional quality: milk quality. Glasgow: Blackie Academic Professional, 1995. 165 p.
- HERZALLAH ET AL.. Effect of Heating and Processing Methods of Milk and Dairy Products on Conjugated Linoleic Acid and Trans Fatty Acid Isomer Content. *Journal of Dairy Science* Vol. 88, No. 4, 2005
- HMSO. England Department of Health. Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. Health and Social Subjects. Report Number 46. London, HMSO, p. 1-15, 1994.
- HOMAN, P.; WATTIAUX, M. A. Milk and milking. In: Guia Técnico da Pecuária Leiteira. Madison, EUA: Inst. Babcock, 1996. p.128.
- KELSEY J. A., B. A. Corl, R. J. Collier, and D. E. Bauman The Effect of Breed, Parity, and Stage of Lactation on Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Milk Fat from Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 86:2588–2597 American Dairy Science Association, 2003
- 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.
- KUS, Mahyara Markievicz Mancio; AUED-PIMENTEL, Sabria; MANCINI-FILHO, Jorge. Comparação de métodos analíticos para determinação de lipídios e ácidos graxos polinsaturados por cromatografia gasosa em fórmula infantil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)*, São Paulo, v. 68, n. 1, Apr. 2009 . Available from <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552009000100002&lng=en&nrm=iso>. access on 25 Mar. 2011.
- KÜHLSEN, N. et al. Trans fatty acids: scientific progress and labeling. *Bulletin of the International Dairy Federation*, n. 393, p. 1-25, 2005.
- LEITE, L. C. Perfil de ácidos graxos e metabolismo de lipídios no rúmen de vacas recebendo dietas com alto ou baixo teor de concentrado e óleo de soja ou de peixe. 2006. 97 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Quairoz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006
- LOBATO, V. Tecnologia de fabricação de derivados do leite na propriedade rural. Lavras/MG: UFLA, 2000. 37 p. (Boletim Técnico). Disponível em:

<http://www.editoraufla.br/Boletim/pdfextensao/bol_33.pdf>. Acesso em: 03 novembro de 2010.

LOPES, Daniella Cristine Fialho. DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA ADICIONADA DE ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO E ENSAIO CLÍNICO EM MULHERES OBESAS. Faculdade de Farmácia da UFMG. Belo Horizonte, MG 2010

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), aprovado pelo Decreto n.º 30.691 de 29 de março de 1952 e alterado pelos Decretos n.ºs 1.255 de 25/06/1962; 236 de 02/09/1994; 1. 812 de 08/02/1996; 2.244 de 04/06/1997. Brasil.

MATTANNA. P, ET. AL. Perfil lipídico, caracterização físico-química e sensorial de requeijão com baixo teor de lactose e requeijões comerciais. Revista Industria de laticínios. Ano XV – n.º 87. Pg 62-67.

MELLO, José André Villas Boas. INOVAÇÃO TECNOLOGIA E MUDANÇA LOGÍSTICA NO SETOR DE LEITES FLUIDOS. II Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia – SEGeT 2005

Michele Gabriela Nogueira FANTI, Keila Emílio de ALMEIDA, Alexandre Mariani RODRIGUES, Roberta Claro da SILVA, Ana Carolina Rodrigues FLORENCE, Luiz Antônio GIOIELLI, Maricê Nogueira de OLIVEIRA. Contribuição ao estudo das características físico-químicas e da fração lipídica do leite orgânico. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas, 28(Supl.): 259-265, dez. 2008

MILINSK, Maria Cristina. Análise comparativa entre oito métodos de esterificação na determinação quantitativa de ácidos graxos em óleo vegetal. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Química, 2007

MOUGIOS, V.; MATSAKAS, A. ; PETRIDOU, A; RING, S.; SAGREDOS, A.; MELISSOPOULOS, A.; TSGILIS, N.; NIKOLAIDIS, M.; Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. J. Nutr. Biochem. v12. 2001.

MUIR, D. D. The shelf life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. Journal of the Society of Dairy Technology, v. 49, n. 1, p. 24- 32, February, 1996.

NASCIMENTO Adriana Rosa do; ANDREA CRISTINA DÖRR. ANÁLISE ECONÔMICA DO PERFIL DOS CONSUMIDORES DE LEITE EM SANTA MARIA – RS. Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. 2009.

O'BREIN R. D. Fat and oils: Formulations and processing for applications. CRC Pres: USA, 2003. 670p.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S.; Microbiologia, MacGraw-Hill: São Paulo, 1981, cap. 39.

PINHEIRO, Adão José Rezende; MOSQUIM, Maria Cristina Alvarenga. Processamento de leite para consume. Viçosa. 1991.

- PRANDINI, A. et al. Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20, n. 6, p. 472-479, 2007.
- PRATA, L. F. Leite UHT In: *Fundamentos de Ciência do Leite*. Jaboticabal: Funep-UNESP (Ed.). 2001. p.189-208.
- RENTERO, N. Em defesa do leite. *Revista Balde Branco*, São Paulo, out. 1993.
- Ribas, S. Brasil ainda tem um longo caminho. *Estado de Minas*, Belo Horizonte, 29 set. 2003. *Caderno Agropecuário*.
- ROMA JUNIOR, Luiz Carlos. Características quantitativas e qualitativas da proteína do leite produzido na região Sudeste. Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz 2008
- SANTOS, E. S.; CARVALHO, E. P.; ABREU, L. R.; Psicrotróficos: conseqüências de sua presença em leites e queijos. *Boletim Sociedade Brasileira Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 33, n. 22, p. 129-138, jul./dez. 1999.
- SANTOS, F. L.; Rosado, G. P.; Lana, R. P.; Silva, M. T. C. Propriedades anticarcinogênicas do ácido linoléico conjugado. *Nutrie: rev. Soc. Bras. Alim. Brazilian Soc. Food Nutr.* São Paulo, SP. V 22, p. 121 – 132, dez. 2001
- SANTOS, Ferlando Lima, et. al. Ácido Linoléico Conjugado. Estratégia para elevação do ácido linoléico conjugado em leite de vacas. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento - nº 24- janeiro/fevereiro 2002*
- SANTOS, M. V. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite. In: J. W. Durr; M. P. Carvalho; M. V. Santos (Org.). *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo, 2004, p. 269-283.
- SANVIDO, GUSTAVO BRAGA. Efeito do tempo de armazenamento do leite cru e da temperatura de estocagem do leite pasteurizado sobre sua vida de prateleira / Gustavo Braga Sanvido. – Campinas, SP: [s.n.], 2007. Orientador: Mirna Lúcia Gigante Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.
- SEBEDIO. J.L.; GNAEDIG, S.; CHARDIGNY. J. Recent advances in conjugated linoleic acid research. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic care*. V. 2 1999.
- SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico Químicas das Proteínas do Leite. *Braz. J. Food Technol.*, v.8, n.1, p. 43-56, jan./mar., 2005
- SILVA, P. H. F.; Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos. Juiz de Fora, 1997
- SILVA& PERRONE. Leite UHT: Fundamentos Químicos e Tecnológicos. Nota técnica 2007.

SIMIONATO, Julliana Isabelle. Composição química e quantificação de ácidos graxos com ênfase ao ácido linoléico conjugado (CLA) em leite e derivados. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Química, 2008

SIMIONATO, Julliana Isabelle et. al. Validation of the Determination of Fatty Acids in Milk by Gas Chromatography. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 21, No. 3, 520-524, 2010. Printed in Brazil - 2010 Sociedade Brasileira de Química

SIMOPOULOS, A.P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. Biomedecine & Pharmacotherapy, Volume 60 (9), 502-507, 2006.

SOUZA; Lucimar Gonçalves de, Avaliação da composição e do perfil de ácidos graxos do leite de vaca cru e pasteurizado em minilaticínios. Acta Scientiarum. Animal Sciences. Maringá, v. 25, no. 2, p. 331-337, 2003

STAAL, P. Monograph on Pasteurized Milk - IDF and the development of milk pasteurization. Bulletin of the International Dairy Federation, n. 200, p.4-6, 1986.

SWAISGOOD, H. E. Review and update of casein chemistry. Journal of dairy science, Champaign, v. 76, p. 3054 – 3061. 1993

TETRA PAK. Dairy processing handbook. Lund, Sweden, 1996. 1CD-ROM

TETRA PAK. TETRA PAK ESTIMA AUMENTO NO CONSUMO DE PRODUTOS LÁCTEOS LONGA VIDA NOS MERCADOS DESENVOLVIDOS. NEWS RELEASE. Disponível: <<http://www.tetrapak.com/br/sobretetrapak/imprensa/noticiasereleases/Documents/Dairy%20index%20%20newsrelease%20FINAL%20PORT.doc>> Acesso 03/12/2010

TVRZICKÁ, E.; Vecka, M.; Stanková, B.; Zák, A. (2002). Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionization detection: Quantitative aspects. Analysis Chimica Acta, 465, 337-350.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. SAEG. Sistema de análises estatística e genéticas. Viçosa, MG, 1997.

VALDEMIRO Carlos SGARBIERI Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. Braz. J. Food Technol., v.8, n.1, p. 43-56, jan./mar., 2005

VELHO, João Pedro. Ácido linoléico conjugado no leite bovino: uma abordagem metanalítica. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2009.

VIDAL, A. M. C. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo *Bacillus cereus* em leite UAT (Ultra Alta Temperatura) integral. Jaboticabal: UNESP, 2001. 65p. (Dissertação MS).

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

ANEXO

Anexo 1. Fator de Correção Experimental (FCE), Teórico (FCT) e Fator de Erro (FE) para o Cromatógrafo em fase gasosa.

| Ácido Graxos | Massa % | Área | | | Ap | Mp | FCE | FCT | FE |
|--------------|---------|----------|----------|-----------|-----------|------|--------------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | Média | | | | | |
| 04:00 | 4,01 | 2958919 | 4668146 | 3813532,5 | 5988713,5 | 1,98 | 3,180 | 1,592964 | 1,996546 |
| 06:00 | 3,99 | 5040945 | 7651687 | 6346316 | 5988713,5 | 1,98 | 1,902 | 1,353751 | 1,404691 |
| 08:00 | 3,99 | 6217715 | 9902141 | 8059928 | 5988713,5 | 1,98 | 1,497 | 1,23404 | 1,213335 |
| 10:00 | 4,03 | 6547487 | 12124732 | 9336109,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,306 | 1,162235 | 1,123346 |
| 11:00 | 1,99 | 3260408 | 6451622 | 4856015 | 5988713,5 | 1,98 | 1,239 | 1,136161 | 1,090941 |
| 12:00 | 4,07 | 6541786 | 13565926 | 10053856 | 5988713,5 | 1,98 | 1,224 | 1,114434 | 1,098692 |
| 13:00 | 1,99 | 3415298 | 7647638 | 5531468 | 5988713,5 | 1,98 | 1,088 | 1,096017 | 0,992805 |
| 14:00 | 3,99 | 6884275 | 16498479 | 11691377 | 5988713,5 | 1,98 | 1,032 | 1,08029 | 0,95551 |
| 14:01 | 1,98 | 3427592 | 8114725 | 5771158,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,038 | 1,071288 | 0,968644 |
| 15:00 | 2,00 | 3410714 | 8645574 | 6028144 | 5988713,5 | 1,98 | 1,003 | 1,066529 | 0,940897 |
| 15:01 | 1,98 | 3360582 | 8468449 | 5914515,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,013 | 1,058148 | 0,956903 |
| 16:00 | 5,94 | 10231090 | 27141458 | 18686274 | 5988713,5 | 1,98 | 0,961 | 1,05463 | 0,911658 |
| 16:01 | 2,00 | 3404004 | 8936538 | 6170271 | 5988713,5 | 1,98 | 0,980 | 1,046767 | 0,936579 |
| 17:00 | 2,01 | 3296205 | 9184848 | 6240526,5 | 5988713,5 | 1,98 | 0,974 | 1,044077 | 0,933063 |
| 17:01 | 2,02 | 3440816 | 9418849 | 6429832,5 | 5988713,5 | 1,98 | 0,950 | 1,036627 | 0,916637 |
| 18:00 | 3,96 | 6564551 | 19342675 | 12953613 | 5988713,5 | 1,98 | 0,925 | 1,034661 | 0,893664 |
| 18:1n-9t | 2,06 | 3428708 | 9976978 | 6702843 | 5988713,5 | 1,98 | 0,930 | 1,027625 | 0,904569 |
| 18:1n-9c | 3,98 | 6758540 | 19588391 | 13173466 | 5988713,5 | 1,98 | 0,914 | 1,027625 | 0,889235 |
| 18:2n-6t | 1,99 | 3063242 | 8846775 | 5955008,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,011 | 1,020693 | 0,990248 |
| 18:2n-6c | 2,03 | 3148730 | 8986873 | 6067801,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,012 | 1,020693 | 0,991375 |
| 18:3n-6 | 2,02 | 2779328 | 7978769 | 5379048,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,136 | 1,013658 | 1,120529 |
| 20:00 | 3,97 | 6554690 | 20136922 | 13345806 | 5988713,5 | 1,98 | 0,900 | 1,018727 | 0,883194 |
| 18:3n-3 | 2,03 | 2833907 | 8018262 | 5426084,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,132 | 1,013658 | 1,116315 |
| 20:01 | 1,99 | 3432284 | 10573005 | 7002644,5 | 5988713,5 | 1,98 | 0,860 | 1,012416 | 0,848986 |
| 20:02 | 1,99 | 3193292 | 10118373 | 6655832,5 | 5988713,5 | 1,98 | 0,904 | 1,006105 | 0,898827 |
| 21:00 | 1,98 | 3037223 | 9255146 | 6146184,5 | 5988713,5 | 1,98 | 0,974 | 1,011899 | 0,962922 |
| 20:3n-6 | 2,00 | 2802663 | 8256671 | 5529667 | 5988713,5 | 1,98 | 1,094 | 0,999793 | 1,094181 |
| 22:1n-9 | 1,99 | 6337526 | 19867408 | 13102467 | 5988713,5 | 1,98 | 0,459 | 0,999897 | 0,459424 |
| 22+20:3n3 | 6,03 | 4980387 | 15021766 | 10001077 | 5988713,5 | 1,98 | 1,824 | 0,999793 | 1,824017 |
| 20:4n-6 | 1,99 | 3161558 | 9969994 | 6565776 | 5988713,5 | 1,98 | 0,917 | 0,993585 | 0,922636 |
| 23:00 | 1,98 | 2840987 | 9136440 | 5988713,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,000 | 1 | 1 |
| 22:02 | 1,98 | 2117566 | 6356467 | 4237016,5 | 5988713,5 | 1,98 | 1,413 | 0,994206 | 1,421664 |
| 20:5n-3 | 2,00 | 2989456 | 9514551 | 6252003,5 | 5988713,5 | 1,98 | 0,968 | 0,987274 | 0,980035 |
| 24:00:00 | 3,98 | 4935398 | 16324254 | 10629826 | 5988713,5 | 1,98 | 1,132 | 0,994827 | 1,138355 |
| 24:01:00 | 2,04 | 3361158 | 10967520 | 7164339 | 5988713,5 | 1,98 | 0,861 | 0,98955 | 0,870331 |
| 22:6n-3 | 1,98 | 1688102 | 5387332 | 3537717 | 5988713,5 | 1,98 | 1,693 | 0,97134 | 1,742767 |

FE = FATOR DE CORREÇÃO EXPERIMENTAL; FCT = FATOR DE CORREÇÃO TEÓRICO; FE = FATOR DE ERRO