



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE**  
**ALIMENTOS**

**ÍNDICE DE QUALIDADE NUTRICIONAL DA FRAÇÃO LIPÍDICA DA**  
**MUÇARELA DE BÚFALA ELABORADA A PARTIR DE MASSA**  
**FERMENTADA CONGELADA**

**THAMYRES PRADO OLIVEIRA**

**ITAPETINGA**  
**BAHIA – BRASIL**  
**2015**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE**  
**ALIMENTOS**

**ÍNDICE DE QUALIDADE NUTRICIONAL DA FRAÇÃO LIPÍDICA DA**  
**MUÇARELA DE BÚFALA ELABORADA A PARTIR DE MASSA**  
**FERMENTADA CONGELADA**

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

**Orientadora:** DSc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão

**Co-orientador:** DSc. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes

**ITAPETINGA**  
**BAHIA – BRASIL**

**2015**

637.3  
O52i

Oliveira, Thamyres Prado

Índice de qualidade nutricional da fração lipídica da muçarela de búfala elaborada a partir de massa fermentada congelada. / Thamyres Prado Oliveira. - Itapetinga: UESB, 2015.

54f.

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, como parte integrante das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”. Sob a orientação da Profª. D.Sc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão e co-orientação do Prof. D.Sc. Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes.

1. Muçarela de búfala - Ácidos Graxos. 2. Muçarela de búfala – Sazonalidade. 3. Muçarela de búfala - Composição. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. II. Ferrão, Sibelli Passini Barbosa. III. Fernandes, Sérgio Augusto de Albuquerque.

**CDD(21): 637.3**

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Muçarela de búfala - Ácidos Graxos
2. Muçarela de búfala – Sazonalidade
3. Muçarela de búfala - Composição



**Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia**  
Programa de Pós-Graduação  
**Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos**



Áreas de Concentração: Engenharia de Alimentos  
Ciência de Alimentos

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título:** ÍNDICE DE QUALIDADE NUTRICIONAL DA FRAÇÃO LIPÍDICA DA MUÇARELA DE BÚFALA ELABORADA A PARTIR DE MASSA FERMENTADA CONGELADA

**Autor (a):** THAMYRES PRADO OLIVEIRA

**Orientador (a):** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sibelli Passini Barbosa Ferrão

**Co-orientador (a):** Prof.<sup>o</sup> Dr. Sérgio Augusto de Albuquerque  
Fernandes

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sibelli Passini Barbosa Ferrão (UESB)

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristiane Leal dos Santos-Cruz (UESB)

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Milena Duarte Lima (UESB)

---

**Itapetinga-BA, 27 de fevereiro de 2015.**

Se pela força da distância você se ausenta, pelo  
poder que há na saudade você voltará.

(Padre Fábio de Melo)

À minha mãe,

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar nessa etapa, dando-me força e coragem.

Ao meu pai, Vivaldo, pelo amor e carinho, essa vitória é dedicada a você!

Ao meu lar (Rei, Deise, Pedro e Esther) companheiros fiéis que com muito amor me fizeram acreditar que eu era capaz.

Aos meus familiares pelo apoio e carinho, em especial Tia Zélia, padrinho Bia e à "sobrinha" Lara que torceram sempre para que eu alcançasse a vitória.

À querida orientadora, Prof<sup>a</sup> Sibelli Passini, pelo carinho, incentivo, apoio e confiança depositada, fundamental para realização deste trabalho.

Ao Prof. Sérgio Fernandes, pela co-orientação, carinho, incentivo e pela colaboração e empenho para o desenvolvimento deste trabalho.

À Tuka em representação à ESALQ-USP que tão carinhosamente me recebeu de portas abertas para tornar possível a realização de parte da pesquisa.

À Sylvania e Dani, colegas com as quais compartilhei os momentos em laboratório durante a realização desta pesquisa.

Aos colegas de turma, com os quais pude partilhar de momentos únicos que contribuíram muito para a formação da profissional que tenho me tornado.

Ao Prof. Paulo Bonomo pelo auxílio na estatística, sempre.

Às amigas, que mesmo não estando presentes o tempo todo, me acolhiam a cada reencontro em Conquista.

Aos funcionários do CFC Alfa, pela torcida e pelo carinho.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pelas instalações e por disponibilizar os laboratórios para a realização de cada etapa da pesquisa.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

OBRIGADA!

## RESUMO GERAL

OLIVEIRA, T. P., **Índice de qualidade nutricional da fração lipídica da muçarela de búfala elaborada a partir de massa fermentada congelada**. Itapetinga - BA: UESB, 2015. 54p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos).

Objetivou-se com a realização desta pesquisa avaliar o efeito do tempo de congelamento da massa fermentada de leite de búfala e do tempo de refrigeração dos queijos muçarela elaborados sobre a composição centesimal, perfil de ácidos graxos e qualidade nutricional. Os tratamentos consistiram nos tempos de congelamento da massa fermentada (0, 40, 80, 102 e 160 dias) de leite de búfala e tempos de refrigeração da muçarela de búfala (0, 10, 20 e 30 dias) processada. Foram realizadas análises do percentual de umidade, teores de cinzas, gordura, proteína, perfil de ácidos graxos e cálculo dos índices de qualidade nutricional. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições, em esquema fatorial 5X4 e os resultados foram analisados por meio de análise de regressão, adotando-se  $\alpha = 0,05$ . Com relação à composição não foi verificada interação entre os tempos de congelamento da massa fermentada e os tempos de refrigeração da muçarela. Os resultados mostraram-se não significativos ( $\alpha = 0,05$ ) para os tempos de refrigeração da muçarela tanto para as análises de composição quanto para os ácidos graxos, entretanto observou-se um efeito significativo para os tempos de congelamento da massa fermentada de leite de búfala para os teores de gordura, umidade, cinzas, proteína e EST. Verificou-se diferenças para ácido caprótico (C6:0), ácido caprílico (C8:0), ácido cáprico (C10:0), ácido mirístico (C14:0), ácido oléico (C18:1 cis9), ácido vacênico (C18:1 trans16) e ácido linolênico (C18:3 n6). Não foram observadas diferenças significativas ( $\alpha = 0,05$ ) para os somatórios de ácidos graxos e índices nutricionais da muçarela estudados. É possível concluir que a utilização da massa fermentada congelada de leite de búfala é uma boa alternativa para superar a escassez sazonal do leite de búfala, pois não influenciou na composição e no perfil de ácidos graxos, sendo assim, a técnica pode ser utilizada sem prejudicar a qualidade nutricional dos queijos.

**Palavras-chave:** Ácidos Graxos, Sazonalidade, Composição.

---

\* Orientador (a): Sibelli Passini Barbosa Ferrão, DSc., UESB. Co-orientadores: Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes, DSc., UESB.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, TP, **Nutritional quality index of the lipid fraction of buffalo mozzarella prepared from frozen yeast dough**. Itapetinga - BA: UESB, 2015. 54p. (Dissertation - Masters in Engineering and Food Science).

The objective of this research to evaluate the effect of fermented dough freezing weather buffalo milk and the cooling time of mozzarella cheese produced on the composition, fatty acid profile and nutritional quality. The treatments consisted of freezing times of leavened dough (0, 40, 80, 120 and 160 days) and buffalo milk cooling times of buffalo milk mozzarella (0, 10, 20 and 30 days) processed. Moisture percentage of analyzes were performed, ash, fat, protein, fatty acid profile and calculating the nutritional quality indices. The experimental design was completely randomized with three replications in a 5x4 factorial scheme and the results were analyzed using regression analysis, adopting  $\alpha = 0.05$ . Regarding the composition was not observed interaction between the freezing times of sourdough and cooling times of mozzarella. The results showed no significant ( $\alpha = 0.05$ ) for the cooling time of mozzarella both for composition analysis as well as for fatty acids, however there was a significant effect of milk fermented dough freezing time buffalo for fat, moisture, ash, protein and EST. There are differences caproic acid (C6: 0), caprylic acid (C8: 0), capric acid (C10: 0), myristic acid (C14: 0), oleic acid (C18: 1 cis9), vaccenic acid (C18 1 trans16) and linolenic acid (C18: 3 n6). No significant differences were observed ( $\alpha = 0.05$ ) for the sums of fatty acids and nutritional indices studied mozzarella. It was concluded that the use of frozen sourdough buffalo milk is a good alternative to overcome seasonal shortages of buffalo milk, it did not influence the composition and fatty acid profile, so the technique can be used without harm the nutritional quality of cheeses.

Keywords: Fatty Acids, Seasonality composition.

---

\* Advisor (a): Sibelli Passini Barbosa Ferrão, DSc, UESB. Co-advisors: Sergio Augusto de Albuquerque Fernandes, DSc, UESB.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição de leite de búfala por diferentes autores .....	19
Tabela 2. Simbologia e nomenclatura comum e sistemática dos ácidos graxos .....	24
Tabela 3. Composição química de queijo muçarela de búfala fabricado a partir da massa fermentada congelada. ....	34
Tabela 4. Perfil de ácidos graxos da muçarela de búfala elaborada com massa fermentada congelada e armazenado por diferentes período.....	36
Tabela 5. Valores médios relativos aos somatórios de ácidos graxos e índices de qualidade nutricional da muçarela de búfala armazenada sob refrigeração por diferentes tempos fabricada a partir da massa fermentada congelada por diferentes períodos.....	40

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura básica dos triacilgliceróis .....	23
Figura 2. Cadeia carbônica do ácido linoléico ômega – 6 (n-6) (A) e $\alpha$ - linolênico ômega- 3 (n-3) (B).....	26
Figura 3. Fluxograma de elaboração da massa fermentada de leite de búfala .....	30

## LISTA DE SIMBOLOS E SIGLAS

AG	Ácidos graxos
AGD	Ácidos graxos desejáveis
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos Poli-insaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
ANOVA	Análise de Variância
CLA	Ácido Linoléico Conjugado
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DIC	Detector de Ionização de Chamas
ECL	Comprimento Equivalente de Cadeia
EST	Extrato Seco Total
F <sub>R</sub>	Fator de Resposta
IA	Índice de Aterogenicidade
IT	Índice de Trombogenicidade
LDL	( <i>Low Density Lipoproteins</i> ) proteínas de baixa densidade
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento
n-3	Ácidos graxos da família ômega-3
n-6	Ácidos graxos da família ômega-6
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação
SAS	Statistical Analysis System

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1	Objetivo Geral.....	15
2.2	Objetivos Específicos .....	15
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
3.1	Bubalinocultura.....	16
3.2	Leite de búfala .....	18
3.3	Muçarela de búfala.....	20
3.4	Efeito do tempo de congelamento da massa fermentada.....	21
3.5	Ácidos graxos .....	23
3.6	Índice de qualidade nutricional.....	27
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
4.1	Local do Experimento.....	29
4.2	Obtenção da matéria-prima.....	29
4.3	Fabricação da muçarela.....	29
4.4	Filagem da massa.....	31
4.5	Composição centesimal .....	31
4.6	Análise de ácidos graxos da muçarela de búfala .....	31
4.6.1	Extração lipídica.....	31
4.6.2	Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos .....	32
4.6.3	Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos .....	32
4.6.4	Identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos.....	32
4.7	Índice de Qualidade Nutricional dos Lipídeos .. <b>Erro! Indicador não definido.</b>	
4.8	Análise estatística .....	33
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>34</b>
5.1	Composição .....	34
5.2	Ácidos Graxos.....	36
5.2.1	Índice de qualidade nutricional.....	40
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A criação de búfalas é uma atividade econômica difundida por todo o mundo em função de sua eficiência no aproveitamento de alimentos fibrosos, da sua facilidade de adaptação à diferentes regiões, entre outros. Quando comparado ao leite bovino, o leite bubalino apresenta maiores teores em sua composição, tornando-se assim uma alternativa econômica, principalmente para pequenos e médios produtores.

O consumo do leite de búfala in natura ainda é pouco difundido, sendo utilizado em sua maioria para a fabricação dos derivados, uma vez que sua composição físico-química possibilita alto rendimento industrial. Entre os produtos elaborados a partir do leite bubalino, tem-se a muçarela que se caracteriza como um produto de ótima aceitação no mercado por apresentar alta qualidade sensorial e nutricional.

A muçarela de búfala é um tipo de queijo feito a partir de leite bubalino integral fabricado de acordo com a tradição italiana de forma artesanal, traduzindo-se em um queijo de massa fresca com características suave e massa macia, elevado teor de gordura e alta umidade cuja coloração é esbranquiçada devido à ausência do  $\beta$  – caroteno. O seu sabor levemente ácido aliado ao seu valor nutritivo faz deste um produto bem aceito pelo consumidor.

No Brasil, a indústria de laticínios passa por períodos em que há redução na disponibilidade de leite de búfala, a entressafra (primavera - verão), em que se observa escassez ocorre à estacionalidade reprodutiva da espécie bubalina. A redução na oferta de leite leva os laticínios à prática de mistura do leite de vaca ao leite de búfala a fim de se obter maior produção, ou ainda, à realização do congelamento da muçarela por períodos de até seis meses, porém não há respaldo legal para a realização desse processo, de forma que não existe a garantia da qualidade do produto no final do congelamento.

Alternativas devem ser testadas a fim de solucionar o problema da falta de muçarela nos meses de entressafra. O congelamento da massa fermentada de leite de búfala pode apresentar-se viável para prolongar a oferta de queijo nos meses de verão. No entanto, podem ocorrer alterações durante o processo de congelamento e descongelamento, como desestabilização de proteínas e gorduras, afetando a qualidade da muçarela.

A composição lipídica da muçarela é de fundamental importância na qualidade tecnológica e nutricional, essa está relacionada ainda com a produtividade, firmeza e cor dos produtos, além do seu envolvimento com o sabor.

Embora seja encontrado no leite alta concentração de ácidos graxos saturados, tem sido relatado em literatura que no perfil de gordura do leite há compostos benéficos a saúde humana (EIFERT et al., 2006) nessa lista encontram-se os ácidos graxos poli-insaturados como o ácido linoléico conjugado (CLA) e os da série ômega- 3 uma vez que reduzem agregações plaquetárias e conseqüentemente a incidência de doenças cardíacas (LIN et al., 1993).

A composição da gordura da dieta é um dos fatores ligados a incidência de doenças crônicas, uma vez que esta pode exercer efeitos promotores ou ainda protetores sobre essas doenças. A avaliação da qualidade nutricional da gordura pode ser realizada a partir da composição em ácidos graxos por meio da determinação de índices que relacionam o conteúdo de ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poli-insaturados Omega 6 e Omega 3 (DIETSCHY et al., 1998).

Na literatura, poucos são os relatos sobre o efeito do tempo de congelamento da massa fermentada de leite de búfala sobre a qualidade da muçarela, sendo assim, é importante avaliar as alterações na composição ao longo do congelamento. Dessa forma, objetivou-se com a realização desta pesquisa avaliar o efeito do tempo de congelamento da massa fermentada de leite de búfala sobre o perfil de ácidos graxos e a qualidade nutricional da muçarela de búfala armazenada sob refrigeração.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar o efeito do tempo de congelamento da massa fermentada de leite de búfala sobre a composição centesimal, o perfil de ácidos graxos e a qualidade nutricional da muçarela de búfala armazenada sob refrigeração.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Elaborar muçarela de búfala com a massa fermentada fresca e com as massas fermentadas e congeladas por diferentes períodos de armazenamento (0, 40, 80, 120 e 160 dias) e estocadas sob refrigeração por (0, 10, 20 e 30 dias);
- Avaliar o efeito do tempo e congelamento da massa fermentada sobre a composição centesimal (proteína, gordura, umidade, cinzas, extrato seco total);
- Avaliar o efeito do tempo de estocagem sob refrigeração sobre a composição centesimal da muçarela (proteína, gordura, umidade, cinzas, extrato seco total);
- Avaliar o efeito do tempo de congelamento da massa fermentada sobre o perfil de ácidos graxos e índice de qualidade nutricional da muçarela;
- Avaliar o efeito do tempo de estocagem sob refrigeração sobre o perfil de ácidos graxos e o índice de qualidade nutricional da muçarela.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Bubalinocultura

O búfalo (*Bubalus bubalis*) é uma espécie originária da Ásia, que se espalhou por praticamente todos os continentes (RODRIGUES et al., 2008). Trata-se de um animal de tripla aptidão, ou seja, é adequado tanto para produção leiteira como de carne, sendo utilizado ainda como animal de tração. Por ser um animal rústico, e adaptado a solos de baixa fertilidade e terrenos alagadiços, são capazes de converter alimentos fibrosos em proteína de alto valor (carne e leite), apresentando longevidade e características particulares de adaptação principalmente quando comparados a outros ruminantes (OLIVEIRA, 2005).

A bubalinocultura se difunde mundialmente devido à superioridade que os búfalos podem apresentar, em relação a outros ruminantes domésticos, principalmente devido à rusticidade e adaptação às variações climáticas e de manejo. No entanto, há preferência por regiões alagadas ou áreas pantanosas o que é característico da espécie; isto ocorre devido aos búfalos possuírem um menor número de glândulas sudoríparas quando comparados aos bovinos e sua pele escura apresenta uma espessa camada de epiderme, que faz com que eles sejam menos eficientes na termorregulação corpórea. Por isso, eles procuram a água para se refrescarem e para se protegerem do ataque de insetos, dessa forma o *Bubalus bubalis* também é chamado de búfalo aquático (DAMASCENO et al., 2010).

No Brasil, a criação de búfalas, para a produção de leite tem se tornado uma atividade de grande importância nos últimos anos, não só para as propriedades rurais como também para as empresas produtoras e processadoras de alimentos. Na região Sudeste, o leite desta espécie é utilizado quase em sua totalidade para a produção de muçarela em função do mercado assegurado e um preço compensatório. Dessa forma, a criação de búfalos apresenta-se como uma fonte de renda, principalmente em regiões onde a criação de bovinos apresenta-se de forma improdutiva, pois os búfalos, mesmo consumindo forrageira de menor valor nutritivo, apresentam ganho de peso, resistência a doenças, além de serem dóceis (OLIVIERI, 2004).

Em 2012 o rebanho bubalino no Brasil era de 1,7 milhões de cabeças, desse total 38% estavam concentrados no Estado do Pará; 18,4% no Amapá e 6,5% no Maranhão. Destaca-se também o expressivo crescimento do rebanho de 7,8% observados entre 2010 e 2011 (IBGE, 2012).

Os búfalos são animais poliéstricos de dias curtos e frios. Esta característica influencia a produção de leite, diminuindo-a na primavera-verão, tornando a produção de leite sazonal. Este é um fator indesejável para as criações destinadas à produção de leite e para laticínios especializados em fabricação de queijos (CARVALHO et al., 2011; ANDRIGHETTO, 2011).

Para a solução do problema, algumas técnicas têm sido estudadas por pesquisadores. Assim, o uso de protocolos hormonais e congelamento de leite têm sido pesquisado.

O uso de protocolos hormonais, que tem como objetivo alterar o processo de natural do ciclo estral das búfalas tem sido usado por produtores e, apesar de apresentarem bons resultados, seu uso ainda é limitado, pois requer uso de técnica exigente em mão-de-obra especializada, assim como de fármacos ainda caros aos produtores (Carvalho, 2014). Esta técnica consiste na inseminação artificial em tempo fixo das búfalas na estação reprodutiva desfavorável à espécie (primavera – verão), fazendo com que os animais se reproduzam fora do período natural contornando-se assim os efeitos da estacionalidade. No entanto, esta alteração no comportamento natural das búfalas causam perdas na fertilidade do rebanho que variam entre sistemas de produção e aumentam o custo de produção (BASTIANETTO et al., 2009 VIEIRA et al., 2009), pois reflete no intervalo de partos, aumentando-o.

Outra alternativa para contornar a estacionalidade reprodutiva da espécie bubalina pode ser o congelamento do leite. Em manejo a pasto, a oferta de leite nos períodos de safra chega a ser 14 vezes maior que o período de entressafra, quando o leite é adquirido oriundo de toda uma produção da safra, o laticínio opta por congelar a matéria-prima ou transformá-la em derivados (e os congela) revertendo o processo na época de comercialização (SANTINI et al., 2013).

Devido a esses fatores, há a necessidade de pesquisas que visam o desenvolvimento de tecnologias com o intuito de conservar parte do leite de búfala produzido no período de safra para a produção de queijos na entressafra, onde há maior demanda pelo produto, promovendo assim, melhor distribuição ao longo do ano.

Por ser o produto de maior interesse econômico e tecnológico, a muçarela de búfala é produzida e congelada pelos laticínios por um prazo que pode durar até seis meses, sem que haja garantia sobre a qualidade ao final do congelamento. Considerando que a vida-de-prateleira de muçarela é de aproximadamente um mês, geralmente o produto congelado é comercializado sem respaldo legal e, na maioria das vezes com

qualidade inferior à produzida a partir de leite fresco comercializada no prazo certo (VIEIRA et al., 2009).

Outra alternativa seria o congelamento da massa fermentada de leite de búfala durante o período de entressafra, visando a obtenção de muçarela de búfala de alta qualidade e com custo acessível, atendendo assim o mercado de forma contínua, durante todo o ano.

### **3.2 Leite de búfala**

Leite é o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda (BRASIL, 2011). Sendo assim o leite da espécie bubalina deve ser assim denominado de leite de búfala.

A composição química do leite de búfala apresenta-se de forma variável entre os diferentes autores. Esta variação relaciona-se com fatores ambientais (estação do ano e tipo de pastagem, alimento e apresentação do alimento) e efeitos do animal (raça, idade, estágio de lactação) (AMARAL et al., 2005). O Leite de búfala apresenta características que o diferenciam em relação ao leite de outras espécies. Possui alto valor nutricional, elevado teor cálcio, de gordura (6,87 a 8,59%) e de proteínas (3,91 a 4,44%). Por isso, o diferencial do leite bubalino está em seu rendimento em sólidos quando comparados ao leite bovino (ARAÚJO et al., 2011) podendo ser utilizado tanto para o consumo in natura como matéria-prima para elaboração de produtos lácteos.

O leite de búfala destaca-se pela ausência do  $\beta$  – caroteno em composição química. E esta é uma de suas características mais acentuadas, conferindo-lhe coloração branca. É mais concentrado do que o leite bovino, apresentando assim menos água e mais matéria seca. Uma característica marcante é o sabor adocicado, apesar de o teor de lactose ser o componente menos variável em relação ao leite bovino (FIGUEIREDO et al., 2010).

A lactose, principal açúcar do leite, pode ser definida como um dissacarídeo, sendo constituído por uma molécula de glicose e outra de galactose, existindo naturalmente na forma de dois isômeros:  $\alpha$  – lactose e  $\beta$  – lactose. É encontrada somente no leite, presente principalmente no soro, e derivados como queijos (FERREIRA, 2007).

Entre os componentes do leite de búfalas encontram-se as proteínas que são constituídas de 77 a 79% de caseínas e de 21 a 23% de soro proteínas. A caseína está

presente na forma de micelas com as frações protéicas  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ , constituindo respectivamente 4%, 6,3%, 35% e 4% do total de caseínas. As micelas de caseína encontradas no leite de búfala são maiores do que as do leite bovino isso faz com que a coalhada elaborada com leite de búfala retenha menos água que as do leite de vaca, durante a ação do coalho, isso se deve à baixa capacidade de retenção da proteína, o que torna o produto mais consistente (AMARAL et al., 2005).

A gordura do leite apresenta grande valor econômico, sendo utilizada na produção de derivados. Esta contribui para o sabor característico do leite e seus derivados, e melhora a textura. Nutricionalmente, a gordura apresenta níveis apreciáveis de ácidos graxos essenciais ao organismo (FIGUEIREDO, 2010).

A composição química do leite de búfala apresenta-se de forma variável entre os diferentes autores, esses fatores podem estar relacionados com fatores ambientais como estação do ano e tipo de pastagem e efeitos do animal como raça, idade, estagio de lactação (AMARAL et al., 2005). A Tabela 1 apresenta dados de composição de leite bubalino encontrados por diferentes autores em estudos realizados no Brasil.

**Tabela 1.** Composição de leite de búfala por diferentes autores

<b>Parâmetros</b>	<b>Huhn et al., (1982)</b>	<b>Verruma e Salgado (1994)</b>	<b>Duarte (2001)</b>	<b>Amaral et al., (2004)</b>	<b>Ferrasso et al., (2011)</b>
<b>Gordura (%)</b>	6,85	8,16	6,96	6,83	6,30
<b>Proteína (%)</b>	3,68	4,50	4,20	4,19	-
<b>Cinzas (%)</b>	0,83	0,70	-	-	-
<b>Umidade (%)</b>	-	83,00	-	-	-
<b>Sólidos (%)</b>	17,50	17,00	17,42	17,19	14,29

Fonte: Adaptado de Amaral et al., (2004); Verruma e Salgado (1994); Huhn et al., (1982); Duarte (2001); Ferrasso et al., (2011);

Os ácidos graxos presentes na gordura do leite búfala em maior concentração, quando comparados com o leite bovino, são os ácidos cáprico, mirístico, palmítico, esteárico, palmitoléico e linoléico e em menor concentração os ácidos graxos butírico e oléico (BITTENCOURT, 2011). Melício et al. (2005) relatam, na gordura do leite de búfala, valores mais elevados para ácidos graxos saturados (64,35%) do que para os

insaturados (35,96%), destacando-se ainda, concentração de 1,77% do ácido linoléico conjugado (CLA).

A gordura de origem animal tem sido muito pesquisada em virtude da associação com doenças cardíacas e com o efeito oxidativo em tecidos (HU, et al., 2001). No leite e derivados, a gordura contém combinações que podem ser benéficas para saúde, como o butirato, os esfingolípídeos e os ácidos linoleicos conjugados (CLA's) (VAN NIEUWENHOVE et al., 2004).

Compostos anticarcinogênicos estão presentes na gordura do leite, dentre os quais, o ácido linoléico conjugado (CLA) com seu isômero C18:2 *cis*-9, *trans*-11, considerado um importante elemento na estratégia de prevenção do câncer (BITTENCOURT, 2011).

Nos países desenvolvidos, a busca por alimentos relacionados a benefícios à saúde humana, tem elevado o valor de mercado de produtos que contenham o CLA. Esta fração lipídica, dependendo de seus isômeros, tem sido comercializada como suplemento alimentar para humanos auxiliando na redução de gordura total, ganho de massa muscular e pelos efeitos anticatabólicos e anticarcinogênicos (PADRE et al., 2005; BITTENCOURT, 2011).

### **3.3 Muçarela de búfala**

A muçarela começou a ser produzida no Sul da Itália, região de Campana, sendo fabricada utilizando-se exclusivamente leite de búfalas. Segundo Teixeira et al. (2005), essa região detém o selo da autêntica “Mozzarella”. A denominação de origem protegida Mozzarella di Búfala Campana, registrada pelo Regulamento da Comissão Econômica Européia (1107/96) agrega o termo campana para claramente se referir ao uso de leite de búfala. O queijo é produzido a partir de leite integral de búfalas contendo elevado teor de gordura, tem característica de massa elástica e um sabor delicado.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define muçarela como sendo o queijo que se obtém por filagem de uma massa acidificada (produto intermediário obtido por coagulação de leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas), complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 1997).

A muçarela é um queijo suave e de massa macia. Trata-se de um produto de qualidade que deve possuir uma crosta fina, consistência semi-dura, textura compacta,

fechada, coloração esbranquiçada, odor suave e ligeiramente ácido (PIETROWSKI et al., 2008).

No Brasil, a muçarela é o principal produto obtido a partir do leite de búfala. A tecnologia aplicada à produção é muito diversificada e por isso os queijos apresentam variações em sua composição. Mesmo diante da importância da pasteurização do leite para a produção de queijos, ainda hoje em alguns laticínios o processo é realizado seguindo a tecnologia de produção italiana, onde se utiliza leite cru, com o propósito de não alterar o processo tecnológico e as características sensoriais do produto (CAVALCANTE, 2004; MARTINS, 2011).

A demanda por muçarela de búfala varia de acordo com as estações do ano. Durante o verão, enquanto a demanda aumenta, a disponibilidade desse produto diminui pela falta de matéria-prima, uma vez que o leite de búfala é produzido em maiores quantidades durante o outono-inverno, quando a demanda é menor. Assim, alternativas devem ser buscadas com intuito de prolongar o tempo de armazenamento desse produto até a época de escassez (CARMO, 2006).

### **3.4 Efeito do tempo de congelamento da massa fermentada**

Com o intuito de tentar solucionar o problema da sazonalidade reprodutiva e consequentemente da oferta de leite nos períodos de entressafra, o congelamento da massa passa a ser uma alternativa. Acredita-se que seja possível utilizar a massa coagulada, fermentada e congelada na fabricação de queijos obtendo-se produtos de alta qualidade e com o custo acessível, atendendo assim a demanda de mercado de forma contínua, durante todo o ano (SILVA, 2012).

Segundo Vieira et al. (2009), a massa fermentada congelada poderá ser armazenada para que seja utilizada no momento oportuno, na medida em que houver a escassez do leite. Economicamente, o congelamento da massa fermentada para a produção de queijo é mais vantajoso se comparado ao congelamento do leite, uma vez que o volume gasto para o armazenamento é 4 vezes maior e o processo poderá ser realizado em bateladas, facilitando a estocagem.

Por outro lado, o congelamento da massa pode causar maiores alterações no produto final, como a formação de sabor oxidado, devido à oxidação dos ácidos graxos e sabor insípido e doce causado pela degradação das proteínas por micro-organismos psicrotóxicos (PELAEZ, 1983). Outras alterações podem ocorrer no produto final, como queijos com menor teor de umidade devido à redução da capacidade de retenção

de água na micela de caseína decorrente de uma mudança na molécula de caseína durante o congelamento, queijos com menor teor protéico causados por uma maior proteólise (alteração na molécula de caseína, aumento de micro-organismos proteolíticos, elevação do pH e a decomposição das proteínas alfa e beta-caseína) (KATITI et al., 2006).

O congelamento do leite pode ter efeitos adversos sobre a gordura do mesmo, destruindo glóbulos de gordura, levando à separação de fase. Outro fator é que os ácidos graxos insaturados no leite congelado são rapidamente oxidados e degradados causando alteração no sabor. Outras alterações no perfil de ácidos graxos de leite congelado e posteriormente descongelado podem ocorrer durante a produção de queijo (ZHANG et al., 2006).

O desenvolvimento da tecnologia de produção e estocagem da massa fermentada de leite de búfala poderá beneficiar os laticínios que se interessem por utilizar a massa fermentada para fabricar muçarela em qualquer época do ano, localizados ou não em bacias de leite de búfala (VIEIRA et al., 2009).

Zhang et al. (2006) testaram o efeito do congelamento de leite e queijo de ovelha sobre a composição e perfil de ácidos graxos e, observaram que houve uma redução mais significativa no percentual de gordura quando armazenados a  $-15^{\circ}\text{C}$  do que a  $-30^{\circ}\text{C}$ , afirmando que os cristais de gelo formados durante o congelamento podem ter danificado os glóbulos de gordura, sendo os cristais formados a  $-15^{\circ}\text{C}$  mais destrutivos para os glóbulos de gordura por serem maiores que os cristais formados a  $-30^{\circ}\text{C}$ .

Katiti et al. (2006) testaram a elaboração de queijo maturado com leite de cabra congelado e a massa da coalhada dessorada e congelada, e observaram que não houve diferença para os queijos resultantes do congelamento da coalhada pelo processo lento (utilizando freezer comum) e rápido (utilizando-se nitrogênio líquido) em relação ao rendimento, características físico-químicas, composição, índice de extensão de maturação e aspectos microbianos, quando comparados ao controle.

A tecnologia de processamento da massa congelada permitirá que uma pequena agroindústria se torne um centro processador de massa. Esse produto intermediário para a produção de muçarela poderá ser simplesmente armazenado para a época de entressafra ou comercializado para outros laticínios que tenham o interesse em produzir muçarela de búfala, assim até mesmo os laticínios que se localizam em locais distantes das bacias leiteiras, onde não ocorra a oferta de leite de búfala, poderão se tornar produtores de muçarela com a utilização da massa congelada (VIEIRA et al., 2009).

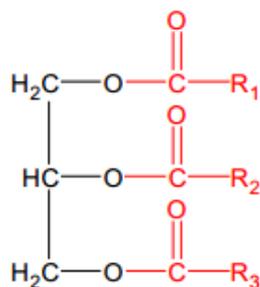
### 3.5 Ácidos graxos

A gordura do leite e de produtos lácteos é apresentada na forma de glóbulos envolvidos por uma membrana fosfolipídica formada por 97-98% de triglicerídeos, 0,25-0,48% diacilgliceróis, 0,02-0,4% monoacilgliceróis, glicolípideos (0,006%) e ácidos graxos livres e 0,1-0,4% de fosfolipídios e esteróis (SEÇKIN et al., 2005).

Os lipídeos são um conjunto de substâncias químicas que, ao contrário das outras classes de compostos orgânicos, não são caracterizadas por grupo funcional em comum, mas sim pela sua alta solubilidade em solventes orgânicos e baixa solubilidade em água (MCMURRY, 1997). São consideradas fontes energéticas com alta concentração de energia disponível, pois são constituídos de ácidos graxos, os quais possuem 2,25 vezes mais energia quando comparados aos carboidratos (SILVA et al., 2007).

Óleos e gorduras são os lipídeos mais comuns. Constituem-se principalmente de triacilgliceróis, que são triésteres de glicerol contendo três ácidos graxos. A estrutura básica dos triacilgliceróis (Figura 1), em que os grupos  $R_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  são cadeias alquílicas que podem conter de 3 a 25 átomos de carbono (LEHNINGER, 1998).

**Figura 1.** Estrutura básica dos triacilgliceróis



**FONTE:** (LEHNINGER, 1998).

Ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeia hidrocarbonada que contém de 4 a 36 átomos de carbono, sendo classificados como ácidos graxos de cadeia curta (4 a 6 carbonos), média (6 a 10 carbonos) e longa (acima de 12 carbonos) (LEHNINGER, 2006). Existem ainda os ácidos graxos de cadeia ímpar, estes por sua vez são mais raros e derivam-se do metabolismo das bactérias no rúmen (FAGUNDES, 2012).

Dependendo da natureza da cadeia hidrocarbonada os ácidos graxos podem ser saturados ou insaturados (monoinsaturados ou poli-insaturados) (RUBIO-RODRIGUEZ, 2010). Quando na forma saturada os carbonos estão ligados entre si por

ligações simples (ligação  $\sigma$ ) e nos ácidos graxos insaturados por ligações duplas (ligação  $\pi$ ) (VIANNI & BRAZ-FILHO, 1996).

Nos bovídeos, os ácidos graxos mais comuns são os de cadeia saturada, os moninsaturados, os polinsaturados e os de cadeia ímpar e ramificada (Tabela 2), com maior participação dos ácidos graxo saturados, seguidos pelos insaturados e em menor percentual os de cadeia ímpar e ramificada.

**Tabela 2.** Simbologia e nomenclatura comum e sistemática dos ácidos graxos

Nomenclatura comum	Nomenclatura sistemática	Símbolo
Butírico	Tetranóico	C 4:0
Capróico	Hexanóico	C 6:0
Caprílico	Octanóico	C 8:0
Cáprico	Dacanóico	C 10:0
Láurico	Dodecanóico	C 12:0
Mirístico	Tetradecanóico	C 14:0
Pentadecílico	Pentadecanóico	C 15:0
Margárico	Heptadecanóico	C 17:0
Palmítico	Hexadecanóico	C 16:0
Esteárico	Octadecanóico	C 18:0
Miristoleico	9 – tetradecanóico	C 14:1
Palmitoléico	Cis – 9 – hexadecanoico	C 16:1 cis 9
Oléico	Cis – 9 – octadecanoico	C 18:1 cis 9
Linoléico	Cis – 9,12 – octadecadienoico	C 18:2
Palmitoléico	Trans - hexadecanóico	C16:1 trans 9
Elaídico	Trans – 9 - octadecanóico	C 18:1 trans 9
Vacênico	Trans – 11 - octadecanóico	C 18:1 trans 11
$\gamma$ – linolênico	6,9,12 – octadecatrienóico	C18:3 $\omega$ – 6
$\alpha$ – linolênico	9,12,15 - octadecatrienóico	C18:3 $\omega$ – 3
Linoléico conjugado	9, 11 - octadecadienóico	C18:2 cis 9 trans 11

Fonte: Adaptado de Vianni& Braz-Filho (1995); Verruma e Salgado (1994).

Entre os ácidos graxos apresentados, os principais saturados encontrados em leite são o palmítico (C 16:0), mirístico (C 14:0) e o esteárico (C 18:0) destacando-se o palmítico que apresenta-se em maior valor (HARDWOOD, 1980).

Os ácidos graxos mais comuns encontrados em leite de búfala são os ácidos graxos saturados (AGS) que se apresentam em torno de 64%, com predominância de ácidos graxos de cadeia longa como palmítico (C 16:0) e esteárico (C 18:0). Para os ácidos graxos de cadeias curta e média, que possuem entre 6 e 14 carbonos, são encontrados o mirístico (C 14:0), caprílico (C 8:0), capróico (C 6:0) e cáprico (C 10:0). Os ácidos graxos insaturados (AGI) representam 36% da gordura do leite de búfala e predominam entre eles o oleico (C18:1n-9c) seguido do linoleico (C 18:2n-7) (MELÍCIO et al., 2005).

Os ácidos graxos saturados de cadeia média (entre 8 e 12 átomos de carbono) após serem absorvidos pelo intestino humano são transferidos para a circulação sanguínea. São transportados ligados à albumina, pela veia porta diretamente para o fígado, onde são metabolizados, não sendo responsáveis pelo aumento do colesterol sérico (SANTOS et al., 2013), esses ácidos foram encontrados em pequenas quantidades na muçarela de búfala estudada e não apresentaram diferença ao longo do tempo de estocagem.

A gordura é um dos componentes essenciais da dieta humana, pois fornece maior quantidade de energia quando comparada aos carboidratos e às proteínas, além disso, é fonte de ácidos graxos essenciais que não são produzidos pelo organismo devendo ser adquiridos na dieta (ZAMBOM et al., 2004).

Os ácidos graxos essenciais são aqueles pertencentes ao grupo do poli-insaturados (AGPI), esses demonstram efeitos benéficos sobre os níveis de colesterol do fígado e do sangue, além disso, tem função protetora contra doenças coronárias e inflamatórias (BRANDÃO et al., 2005).

A composição em ácidos graxos dos alimentos é de grande importância, principalmente os poli-insaturados das famílias ômega-3 e ômega-6, aos quais se atribuem inúmeros benefícios ao organismo humano (MARTIN et al., 2006).

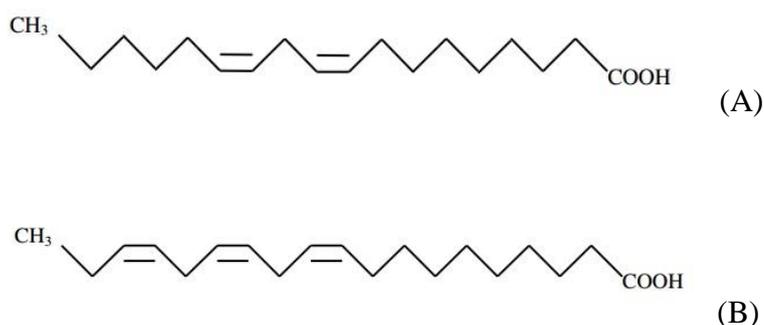
Os ácidos graxos monoinsaturados podem ser adquiridos também pela dieta, no entanto alguns deles sofrem dessaturação no organismo, tendo como precursores os ácidos graxos palmítico e esteárico que vão produzir os ácidos graxos palmitoléico (C16:1w7) e oleico (C18:1w9) respectivamente, por meio da introdução de uma dupla ligação *cis* entre o carbono 9 e 10 por uma reação oxidativa, catalisada pela acil – COA dessaturase (VISENTAINER et al., 2006).

Nas últimas décadas, efeitos benéficos têm sido associando aos ácidos graxos poli-insaturados, uma vez que reduzem agregações das plaquetas e triglicerídeos e,

consequentemente, o risco de doenças cardíacas (HIRAYAMA, 2006). Esses ácidos graxos apresentam três ou mais ligações duplas e, do ponto de vista nutricional, são considerados “gorduras boas”, devendo estar inclusos na dieta alimentar para manter níveis saudáveis de lipídeos no sangue e a adequada coagulação sanguínea, além disso, também auxiliam a regular a pressão arterial, a controlar inflamações nos casos de infecções ou lesões e o sistema de defesa imunológico (GOUVÊA et al., 2012).

Os ácidos graxos poli-insaturados são os mais importantes componentes dos fosfolipídios que formam as membranas das células. Eles podem ser subdivididos em duas famílias de acordo com a posição da primeira instauração da cadeia carbônica (Figura 2), sendo então chamadas de família ômega – 6 e família ômega- 3 (LEHNINGER et al., 1998).

**Figura 2.** Cadeia carbônica do ácido linoléico ômega – 6 (n-6) (A) e  $\alpha$ - linolênico ômega- 3 (n-3) (B)



**FONTE:** LEHNINGER et al. (1998).

Ácido linoléico conjugado (CLA) é um termo coletivo referente aos isômeros geométricos e posicionais do ácido linoléico com duplas ligações conjugadas. Este grupo de ácidos graxos destaca-se entre os ácidos graxos insaturados, pois apresentam diversas características benéficas a saúde (CHILLIARD et al., 2001).

Os CLA's presentes no leite de animais ruminantes possuem duas origens possíveis: a partir da biohidrogenação parcial do ácido linoleico (via enzima cis-trans isomerase) no rúmen do animal, ou a partir da ação da enzima delta-9-desaturase, largamente presente em tecidos mamários e adiposos de animais ruminantes, sobre o ácido 11-trans octadecanóico (GOUVÊA et al., 2012).

Em produtos de origem animal, o isômero de CLA é conhecido também como ácido rumênico que origina-se na primeira isomerização do ácido linoléico por bactérias do rúmen. (LUNA et al., 2007).

A composição de ácidos graxos em derivados lácteos é muito variável, especialmente para o CLA (ácido linoléico conjugado) que varia de 2 a 37 mg/g de lipídeos. Tal variação é atribuída à fatores genéticos e fisiológicos relacionados aos animais e principalmente aos fatores ambientais, como a origem geográfica, e à dieta das vacas, o que pode ser um fator de variação na composição de ácidos graxos do leite. Além disso, os fatores relacionados ao processamento do leite também podem afetar a composição de CLA do produto final, como diferentes culturas lácteas no caso da fermentação, tratamento térmico e período de maturação (NUNES et al., 2010). Portanto, a composição de CLA em derivados lácteos industrializados pode apresentar diferença entre as regiões e entre as diferentes marcas.

Uma variedade de efeitos benéficos à saúde tem sido associada ao CLA entre eles incluem efeito anticancerígeno, antiaterosclerose (BELURY, 2002), alteração na composição corporal e metabolismo do tecido adiposo e modulação do sistema imune (PARIZA, PARK E COOK, 2001). Esses resultados servem de estímulo para o aumento no número de pesquisas que propõem o aumentar do teor de CLA na dieta humana a partir do aumento no teor de CLA nos produtos de origem animal, principalmente nos originados de ruminantes, sua principal fonte (BAUMAN et al., 1999).

### **3.6 Índice de qualidade nutricional**

A avaliação da qualidade nutricional de gorduras tem sido realizada com base na composição de ácidos graxos, por meio da determinação de índices que relacionam o conteúdo de ácidos saturados, monoinsaturados, poli-insaturados séries  $\omega$ -6 e  $\omega$ -3 e razão entre estes, ácidos graxos desejáveis, índice de aterogenicidade e de trombogenicidade (DIETSCHY, 1998).

Os pesquisadores Ulbricht e Southgate em 1991, propuseram dois índices que avaliam os ácidos graxos e seus efeitos no metabolismo das lipoproteínas. Estes índices chamados de índice de Aterogenicidade (IA) e índice de Trombogenicidade (IT) são aplicados para avaliar a qualidade nutricional de óleos. Não existem valores recomendados para esses índices. No entanto, valores menores exprimem uma relação de ácidos graxos favoráveis e os valores maiores sugerem que o consumo do óleo estudado traz malefícios à saúde.

Para outros pesquisadores como Turan et al., (2007) os índices de aterogenicidade IA e IT indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, isto é, quanto menores os valores de IA e IT maior é quantidade de ácidos graxos anti-

aterogênicos (previnem a aterosclerose que resulta no entupimento das veias) presentes em determinados óleos/gorduras e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronárias.

Para a determinação do IA, apenas os ácidos graxos saturados com cadeia contendo de 12, 14 e 16 carbonos são considerados aterogênicos, sendo que o ácido mirístico (C14:0) é considerado quatro vezes mais aterogênico do que o ácido láurico (C12:0) e o ácido palmítico (C16:0). O ácido esteárico, saturado, é omitido em função de não interferir na colesterolemia. Todos os ácidos graxos insaturados são igualmente eficazes na redução da aterogenicidade (RAMOS FILHO et al., 2010).

Para o IT, os ácidos mirístico, palmítico e esteárico são considerados pró-trombogênicos, enquanto os ácidos graxos insaturados são admitidos como anti-trombogênicos com diferentes potencialidades (RAMOS, 2007).

Os alimentos de origem animal possuem IA em faixas bem estabelecidas, assim a gordura da carne possui valores entre 0,5 e 1,0, enquanto a gordura do leite possui valores próximos a 2,0. Esta diferença se relaciona à diferença no perfil de ácidos graxos entre estes alimentos, visto que, o leite possui concentração maior de ácidos graxos de cadeia curta (C4 a C10) e média (C12 a C16), enquanto nos tecidos de ruminantes são observados ácidos graxos de cadeia média e longa (BOBE et al., 2010).

Na literatura são raras as referências que avaliam o índice de aterogenicidade, principalmente, no que se refere à muçarela búfala. De acordo com Bobe et al. (2004), produtos lácteos comumente apresentam IA próximo de 2,0.

Naydenova et al. (2014) avaliou os índices de Aterogenicidade e Trombogenicidade em queijos de búfala e observou que durante a maturação houve uma redução no índice de aterogenicidade que passou de 2,72 para 2,16, para o índice de trombogenicidade também foi observada redução durante a maturação que passou de 1,74 no queijo fresco para 1,20 no queijo maduro.

Estudos mostram que uma relação de valores baixos para esses índices e valores mais elevados dos ácidos graxos mono e poli-insaturados indicam um produto saudável e que a utilização de dietas caracterizadas por baixos valores desses índices pode reduzir o risco potencial de doença cardíaca coronária (NICOLOSI et al., 2004).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local do Experimento

A fabricação da massa fermentada foi realizada em um Laticínio na cidade de Itapetinga – BA e a etapa de produção da muçarela conduzida no Laboratório de Processamento de Leites e Derivados na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) Campus de Itapetinga-BA. A etapa de extração da gordura para a análise de ácidos graxos foi realizada no Centro de Análises Cromatográficas (CEACROM) da UESB.

### 4.2 Obtenção da matéria-prima

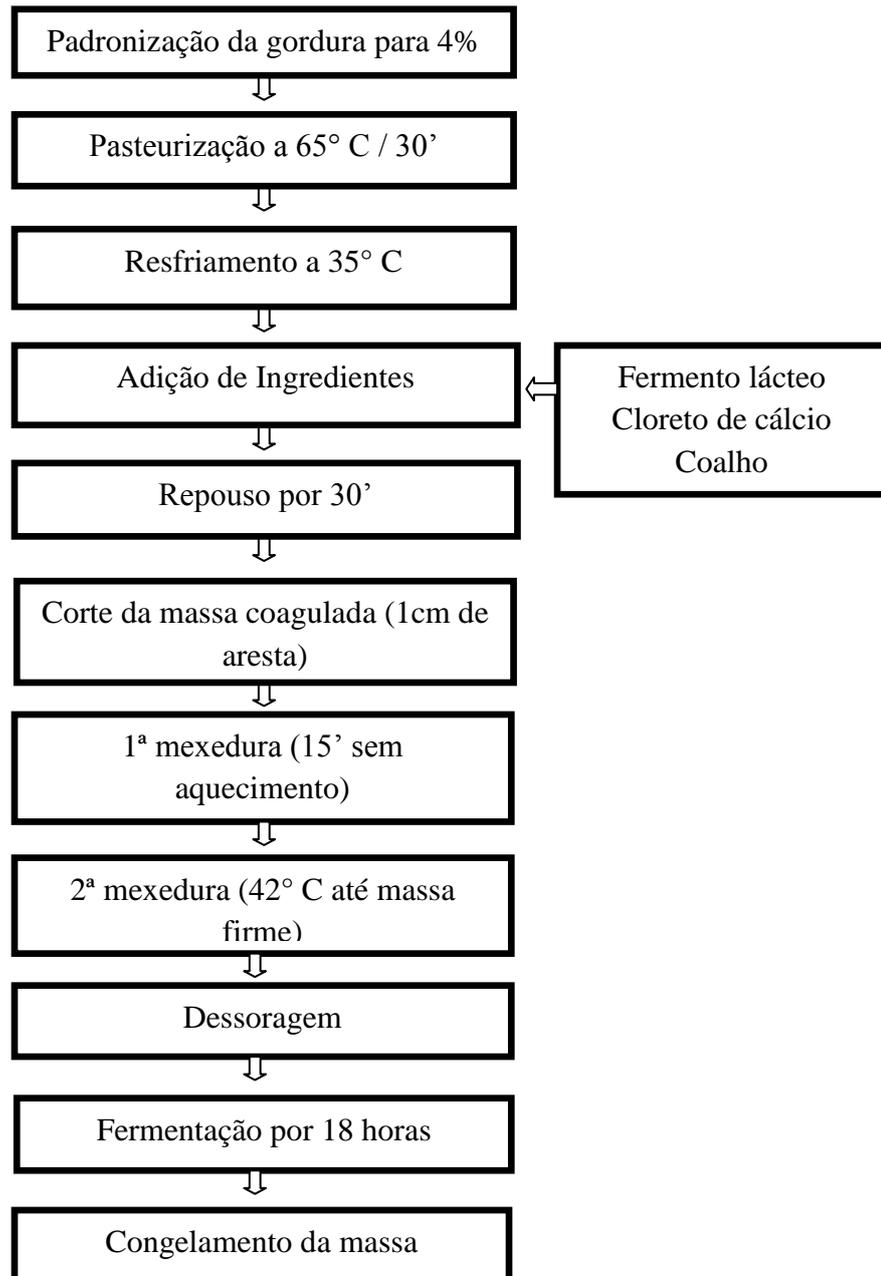
As amostras de leite de búfala foram coletadas às 6 horas da manhã, em uma fazenda localizada no município de Maiquinique – BA, sob sistema de ordenha manual e em condições de ordenha higiênica, de fêmeas bubalinas mestiças Jafarabadi x Murrah, alimentadas a pasto (*Brachiaria decubens*), no período final da lactação.

### 4.3 Fabricação da muçarela

O experimento foi conduzido em um laticínio situado na cidade de Itapetinga BA, onde foram realizadas um total de quatro repetições. O volume de leite utilizado em cada repetição variou entre 70 e 100 litros, com padronização em aproximadamente 4,0% de gordura. Para a obtenção das massas fermentadas, o leite foi pasteurizado a 65°/ 30 min, seguido de resfriamento até a temperatura de 35°C. Em seguida foi realizada a adição dos ingredientes, utilizando-se 1,0 g de cultura lática mesófila, liofilizada (Fermento DVS-R704 *Chr Hansen*) constituída pelas espécies *Lactococcus Lactis* subespécie *Cremoris* e *Lactococcus Lactis* subespécie *lactis*, 5,0 mL de cloreto de cálcio a 50% e 9,0 mL de coalho (coagulante líquido HÁ-LA® do Brasil - *Chr Hansen* – força 1:3.000). Após repouso de 30 minutos o coágulo (massa), foi cortado com o auxílio de liras (cerca de 1,0 cm<sup>3</sup> de aresta) e procedeu-se lentamente a primeira mexedura da massa durante 15 minutos sem aquecimento e depois uma segunda mexedura da massa a 42° C, até se obter uma massa cozida e firme. Realizou-se a dessoragem e a massa fermentou por um período de aproximadamente 18 horas. Após a obtenção das massas fermentadas, as mesmas foram divididas em cinco blocos de massa aproximadamente iguais, sendo uma delas filada no mesmo dia e as demais transportadas até o laboratório de Processamento de Leite e Derivados da Universidade

Estadual do Sudoeste da Bahia (Figura 1), onde foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do descongelamento preconizado para cada tratamento para elaboração dos queijos: T1 – sem congelamento da coalhada fermentada; T2 – massa fermentada congelada por 40 dias; T3 – massa fermentada congelada por 80 dias; T4 – massa fermentada congelada por 120 dias; e T5 – massa fermentada congelada por 160 dias.

**Figura 3.** Fluxograma de elaboração da massa fermentada de leite de búfala



#### **4.4 Filagem da massa**

Após descongeladas em seus respectivos tempos e a massa do tratamento controle (massa fresca), foram fatiadas, filadas em água aquecida a 80° C, acondicionadas em formas próprias para muçarela, e viradas de 10 em 10 minutos durante 40 minutos, e salgadas em salmoura 20% (m/v) por cerca de uma hora. Após esse período foram retiradas da salmoura para posterior secagem sob refrigeração, durante doze horas, sendo embaladas a vácuo. Foram estocados sob refrigeração a 4°C e analisadas de acordo com os tempos de refrigeração: 0, 10, 20 e 30 dias.

#### **4.5 Composição centesimal**

Para a composição centesimal do queijo muçarela determinou-se, em triplicata, os percentuais de umidade pelo método gravimétrico em estufa a 105°C e o teor de cinzas em mufla a 550°C. O percentual de gordura foi realizado pelo método de Gerber, e o teor de nitrogênio total (NT) pelo método Kjeldahl, utilizando-se o fator de conversão de 6,38 para o cálculo da proteína total, segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **4.6 Análise de ácidos graxos**

Os queijos muçarela de búfala foram separados por repetição. As amostras foram preparadas para a extração lipídica após terem passado por refrigeração nos tempos determinados (0, 10, 20 e 30 dias).

Porções de muçarela de búfala foram raladas e cerca de 10g foram pesadas em béquer de 250 mL no qual foi realizado o processo de mistura com os solventes da extração. Todas as análises foram conduzidas em duplicata.

##### **4.6.1 Extração lipídica**

Os lipídeos das amostras de muçarela foram extraídos com clorofórmio, metanol e água (2:1:0,75) de acordo com a metodologia de Folch et al. (1957).

Foram adicionados 25mL de metanol à amostra e em seguida agitou-se com o auxílio de agitador magnético. Após 5 minutos de agitação constante foram adicionados 50 mL de Clorofórmio que foram mantidos sob agitação por 10 min. A filtração da amostra foi feita com o auxílio de um funil de Bunchner acoplado a kitassato e bomba a vácuo. Após a etapa de filtração, o material filtrado foi coletado e ao resíduo (amostra sólida) adicionado novamente ao béquer sendo acrescentado 30 mL de solução MIX

contendo Clorofórmio e Metanol na proporção 2:1. A mistura foi novamente agitada por 5 minutos, em seguida adicionados 45 mL de água e após 5 minutos sob agitação a mistura foi filtrada. O filtrado foi colocado em funil de separação com capacidade para 250 mL e mantido até total separação de fases. Após separação obteve-se a fase inferior formada por clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) e gordura, e fase superior álcool metílico (MeOH). A fase inferior foi coletada e transferida para balão de fundo chato de 250 mL onde foi realizada a etapa de evaporação, enquanto a fase mantida no balão foi descartada. A etapa de evaporação é realizada em rotavapor à temperatura entre 33-34 °C, onde todo o clorofórmio presente na mistura foi evaporado restando apenas a fração de gordura da amostra.

#### **4.6.2 Preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos**

Os lipídeos extraídos das amostras de queijo foram submetidos à preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos, segundo a metodologia descrita por Chistie (1982).

#### **4.6.3 Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos**

As amostras esterificadas foram analisadas em cromatógrafo a gás modelo Focus CG- Finnigan, com detector de ionização de chama, coluna capilar CP-Sil 88 (Varian), com 100 m de comprimento por 0,25  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno e 0,20 $\mu\text{m}$  de espessura do filme. Foi utilizado o hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 1,8mL/min. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70 °C, tempo de espera 4 min, 175°C (13 °C/min) tempo de espera 27 min, 215°C (4 °C/min) tempo de espera 9 min. e, em seguida aumentando 7 °C/min. até 230 °C, permanecendo por 5min., totalizando 65 min. A temperatura do vaporizador foi de 250 °C e a do detector foi de 300 °C

Uma alíquota de 1  $\mu\text{L}$  do extrato esterificado foi injetada no cromatógrafo e a identificação dos ácidos graxos foi feita pela comparação dos tempos de retenção e as percentagens dos ácidos graxos foram obtidas através do *software* – *Chromquest 4.1* (Thermo Electron, Italy).

#### **4.6.4 Identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos**

Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões de ácidos graxos de manteiga. Os

ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos. Os resultados dos ácidos graxos foram expressos em percentual de área (%).

### (PARÂMETROS NUTRICIONAIS)

A qualidade nutricional dos lipídeos da muçarela de búfala foi avaliada por meio do Índice de Aterogenicidade (IA), Índice de Trombogenicidade (IT) e Ácidos Graxos Desejáveis (AGD), a partir dos resultados obtidos para as análises dos ácidos graxos encontrados nas amostras, segundo as equações 2, 3 e 4, respectivamente (ULBRICHT & SOUTHGATE, 1991).

$$IA = \frac{12:0 + (4 \cdot 14:0) + 16:2}{\sum AGMI + \sum n - 6 + \sum n - 3} \quad (2)$$

$$IT = \frac{14:0 + 16:0 + 18:0}{(0,5 \sum AGMI) + (0,5 \sum n - 6) + (3 \sum n - 3) + (\sum n - 3 / \sum n - 3)} \quad (3)$$

$$AGD = C 18:0 + AGPI + AGMI \quad (4)$$

Em que:

$\sum AGMI$  = Somatório de Ácidos Graxos Monoinsaturados;

$\sum n-6$  = somatório dos ácidos graxos da família ômega - 6;

$\sum n-3$  = somatório dos ácidos graxos da família ômega - 3;

$\sum n-3/\sum n-6$  = relação dos ácidos graxos das famílias ômega 3 e 6;

AGD = Ácidos Graxos Desejáveis;

AGPI = Ácidos Graxos Poli-insaturados;

AGMI = Ácidos Graxos Monoinsaturados.

#### 4.7 Análise estatística

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 5x4, sendo cinco tempos de congelamento da massa (0, 40, 80, 120 e 160 dias) e quatro tempos de refrigeração do queijo processado (0, 10, 20 e 30 dias), com três repetições, em delineamento inteiramente casualizado.

Todas as análises estatísticas necessárias foram realizadas no pacote estatístico Statystical Analysis System® versão 9.0 procedimentos GLM e REG, licenciado pela Universidade de São Paulo (SAS, 2001). Os resultados obtidos nas análises foram submetidos à ANOVA, considerando-se como fontes de variação os tempos de congelamento, tempos de refrigeração e a interação tempo de congelamento e tempo de refrigeração, testados a 5% de significância. A interação foi desdobrada, ou não, de acordo com a significância. O efeito do tempo de congelamento da massa fermentada foi avaliado por análise de regressão, por meio de polinômios ortogonais, pela decomposição da soma de quadrados em efeito linear e quadrático.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição

Com relação à interação entre o tempo de congelamento da massa e o tempo de estocagem sob refrigeração da muçarela fabricada a partir da massa congelada não foi verificada diferença significativa ( $P>0,05$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Composição química de queijo muçarela de búfala fabricado a partir da massa fermentada congelada

Parâmetros (%)	Tempos de Congelamento (dias)					CV	P	R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160			
<b>Umidade</b> <sup>Eq1</sup>	55,65	53,66	52,52	55,10	55,35	4,30	0,008	0,75
<b>GES</b> <sup>Eq2</sup>	63,58	57,59	51,01	52,81	56,90	8,27	0,001	0,95
<b>Proteína</b> <sup>Eq3</sup>	19,47	19,80	20,10	21,32	21,83	7,80	0,008	0,81
<b>Cinzas</b> <sup>Eq4</sup>	5,36	6,33	6,85	6,84	6,30	7,85	0,001	0,96
<b>EST</b> <sup>Eq5</sup>	44,45	46,42	47,54	44,87	44,65	5,03	0,008	0,76

Eq1  $\hat{Y} = 0,0004C^2 - 0,06C + 55,46$ ; Eq2  $\hat{Y} = 0,0013C^2 - 0,25C + 64,14$ ; Eq3  $\hat{Y} = 0,004C + 19,95$ ; Eq4  $\hat{Y} = 0,0002C^2 + 0,03C + 5,40$ ; Eq5  $\hat{Y} = 0,0004C^2 + 0,06C + 44,65$ ; **P**= Probabilidade ( $\alpha=0,05$ ); **R<sup>2</sup>**= coeficiente de determinação; **CV**= coeficiente de variação; **GES**= gordura no extrato seco **EST** = Extrato Seco Total.

Foram observadas diferenças significativas ( $p<0,05$ ) para os tempos de congelamento da massa fermentada sobre a composição centesimal da muçarela de búfala.

O teor de umidade apresentou valores entre 52,52% e 55,65% estando em conformidade com o estabelecido na legislação vigente, que indica teores máximos de 60% (m/m) para o queijo muçarela (BRASIL, 1997) e próximos aos valores obtidos por Greggio et al. (2006) que obtiveram queijo muçarela de búfala com umidade em torno de 52%. No presente estudo foi observada uma redução no teor de umidade para os tempos 40 e 80 de congelamento da massa fermentada, esse fato pode ter ocorrido devido à redução da capacidade de retenção de água da micela de caseína decorrente de uma mudança na micela durante o congelamento (Katiti, 2006).

Os percentuais de gordura obtidas na análise para o queijo muçarela variaram entre 51,01% e 63,58%, esses resultados foram superiores aos encontrados por Greggio et al. (2006) que relataram valor de 38,92% e 47,62% de gordura no extrato seco na muçarela convencional e orgânico respectivamente. No presente trabalho observou-se efeito quadrático para os teores de gordura, apresentando redução nos teores para os queijos produzidos a partir da massa congelada por 80 e 120 dias.

A redução no teor de gordura pode estar associada à ruptura da membrana lipoproteica do glóbulo de gordura que teria ocorrido em função do processo de congelamento da massa fermentada, pois segundo Katiti et al. (2006) o congelamento pode alterar o equilíbrio físico do sistema devido ao aparecimento de cristais de gelo que destroem a membrana do glóbulo de gordura.

O teor de proteína aumentou ao longo do congelamento da massa fermentada apresentando valores entre 19,47% e 21,83%. Essa elevação contribui para o aumento do extrato seco desengordurado e conseqüentemente, o aumento do rendimento industrial dos produtos.

Para a análise de cinzas dos queijos foi observada uma influência ( $P < 0,05$ ) dos diferentes tempos de congelamento da massa fermentada. Observou-se uma variação no teor de cinzas entre 5,36% e 6,85% ao longo do congelamento da massa fermentada de leite de búfala. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Katiti et al. (2006) ao estudarem os aspectos químicos do queijo produzido com leite de cabra utilizando massa dessorada congelada. De acordo com McMahon et al. (2005) a presença de minerais leva a fortes interações proteína-proteína no interior da matriz do queijo ocorrendo sinérese e desta forma levando à exclusão da água na matriz do queijo durante o processamento, o que explica a diminuição no teor de água com o aumento do teor de cinzas no presente trabalho para os tempos de congelamento até 80 dias.

Os resultados encontrados para o extrato seco total (EST) apresentaram efeito significativo ( $P < 0,05$ ). O aumento no teor de EST está associado à redução no teor de água, concentrando os demais constituintes.

## **5.2 Ácidos Graxos**

Relacionando-se o tempo de congelamento da massa fermentada de leite de búfala com o tempo de refrigeração da muçarela fabricada a partir da massa congelada, observou-se que não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) entre os parâmetros avaliados, o que sugere que o congelamento da massa não exerceu influência sobre a composição em ácidos graxos da muçarela.

Não foi observada variação significativa ( $P > 0,05$ ) no conteúdo total de ácidos graxos da muçarela de búfala para os diferentes tempos de armazenamento sob refrigeração. Entretanto, observou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) ao congelar a massa fermentada por até 160 dias para o ácido capróico (C6:0), ácido caprílico (C8:0), ácido cáprico (C10:0), ácido mirístico (C14:0), ácido oléico (C18:1 cis 9), ácido vacênico (C18:1 trans 16) e ácido linolênico (C18:3 n6). Foram identificados 52 ácidos graxos presentes na muçarela, sendo listados os de maior incidência em leite e queijo de búfala de acordo com a literatura (ROMANO et al., 2011; VIANNI & BRAZ-FILHO, 1996; VERRUMA E SALGADO, 1994). Os valores obtidos na análise de ácidos graxos foram agrupados conforme o grau de saturação (Tabelas 4).

**Tabela 4.** Perfil de ácidos graxos da muçarela de búfala elaborada com massa fermentada congelada e armazenado por diferentes períodos

Ácidos Graxos	Tempo de congelamento					Tempo de Refrigeração				Valores de P			R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160	0	10	20	30	Cong	Ref	Ref x cong	
<i>Saturados</i>													
<b>C4:0</b>	3,56	3,77	3,65	3,72	3,72	3,40	3,64	3,69	3,81	0,15	0,65	0,66	0,75
<b>C6:0</b>	1,31	1,32	1,32	1,34	1,36	1,07	1,33	1,30	1,36	0,003 <sup>*1</sup>	0,55	0,07	0,79
<b>C8:0</b>	0,68	0,67	0,67	0,71	0,68	0,50	0,67	0,68	0,70	0,04 <sup>*2</sup>	0,84	0,62	0,87
<b>C10:0</b>	1,24	1,21	1,21	1,28	1,23	0,87	1,21	1,23	1,26	0,05 <sup>*3</sup>	0,79	0,62	0,87
<b>C12:0</b>	1,78	1,76	1,76	1,81	1,71	1,39	1,73	1,77	1,79	0,10	0,89	0,83	0,84
<b>C14:0 iso</b>	0,06	0,07	0,08	0,10	0,35	0,23	0,08	0,07	0,24	0,03 <sup>*4</sup>	0,91	0,38	0,74
<b>C14:0</b>	9,32	9,17	9,21	9,54	9,28	8,21	9,22	9,31	9,38	0,03 <sup>*5</sup>	0,57	0,33	0,74
<b>C16:0</b>	29,89	30,08	30,31	30,50	30,03	28,39	30,29	29,82	30,37	0,21	0,83	0,19	0,38
<b>C18:0</b>	14,67	14,86	14,85	14,08	14,93	12,81	14,97	14,63	14,42	0,20	0,47	0,45	0,67
<i>Monoinsaturados</i>													
<b>C16:1 cis9</b>	2,17	2,12	2,12	2,20	2,11	2,74	2,12	2,15	2,17	0,08	0,82	0,52	0,57
<b>C18:1 cis9</b>	21,05	20,78	20,84	20,70	20,45	25,91	20,65	21,15	20,50	0,003 <sup>*6</sup>	0,13	0,11	0,89
<b>C18:1 trans</b>	4,19	4,16	4,11	3,90	4,11	3,00	4,09	4,14	4,05	0,10	0,34	0,72	0,82
<b>C18:1 trans 16</b>	0,23	0,24	0,24	0,23	0,23	0,14	0,24	0,23	0,23	0,02 <sup>*7</sup>	0,17	0,07	0,7
<i>Poli-insaturados</i>													
<b>C18:2 cis9 trans11</b>	1,20	1,18	1,18	1,17	1,17	1,12	1,18	1,20	1,16	0,67	0,69	0,68	0,89
<b>C18:3 n6</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,002	0,00	0,00	0,00	0,17	0,41	0,27	0,57
<b>C18:3 n3</b>	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,40	0,10	0,10	0,09	0,001 <sup>*8</sup>	0,33	0,01	0,90

Eq<sup>1</sup>  $\hat{Y} = 2e^{-6} + 4e^{-5}x + 1,311$ ; Eq<sup>2</sup>  $\hat{Y} = 8e^{-6}x^2 + 0,681$ ; Eq<sup>3</sup>  $\hat{Y} = 2e^{-5}x^2 + 0,001x + 1,242$ ; Eq<sup>4</sup>  $\hat{Y} = 2e^{-6}x^2 + 0,06$ ; Eq<sup>5</sup>  $\hat{Y} = 7e^{-5}x^2 + 0,007x + 9,325$ ; Eq<sup>6</sup>  $\hat{Y} = 2e^{-5}x^2 + 0,004x + 21,02$ ; Eq<sup>7</sup>  $\hat{Y} = -3e^{-6} + 0,23$ ; Eq<sup>8</sup>  $\hat{Y} = 2e^{-6} + 0,09$ ; Teste F (P<0,05) C4:0 (ácido butírico); C6:0 (ácido capróico); C8:0 (ácido caprílico); C10:0 (ácido cáprico); C12:0 (ácido láurico); C14:0 iso (ácido mirfístico); C14:0 (ácido mirfístico); C16:0 (ácido palmítico); C18:0 (ácido esteárico); C18:2 cis 9 trans 11 (ácido rumênico); C18:3 n6 (ácido- $\gamma$ -; linolênico); C18:3 n3 (ácido-  $\alpha$ - linolênico); C18:1 trans 16 (ácido vacênico).

De maneira geral o perfil de ácidos graxos da muçarela de búfala não foi afetado pelo processo de congelamento da massa fermentada por até 160 dias. Estudos semelhantes foram realizados por Zhang et al. (2006) com o objetivo de avaliar os efeitos da temperatura de congelamento de leite e queijo de ovelha sobre a composição e perfil de ácidos graxos e foi observado que o perfil de ácidos graxos não foi afetado pela temperatura e tempo de congelamento, o que se verificou foi uma redução no rendimento real do queijo fabricado com o leite congelado.

Observou-se no presente estudo que os ácidos graxos que mais contribuíram para a composição lipídica da muçarela de búfala foram: palmítico (C16:0), oléico (C18:1 cis 9), esteárico (C18:0), mirístico (C14:0) e butírico (C4:0). Resultados semelhantes foram relatados por Romano et al., (2011) ao avaliar os ácidos graxos presentes em queijos muçarela de búfala da região da Campana. Os ácidos graxos encontrados na gordura da muçarela em ordem decrescente relatados por outros autores foram: ácido palmítico, oléico, láurico e esteárico (VAN NIEUWENHOVE et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2009).

A gordura do leite contém ácidos graxos derivados da síntese de novo na glândula mamária, principalmente os de cadeia curta (entre 4 e 10 átomos de carbono) (PALMQUIST et al. 1993). Os teores médio encontrados neste trabalho não sofreram influência ao longo dos tempos de congelamento e refrigeração, com exceção dos ácidos C6:0 (ácido caprótico), C8:0 (ácido caprílico) e C10:0 (ácido cáprico) que apresentaram redução em seus teores para os queijos que não foram estocados sob refrigeração (tempo 0) o que pode estar relacionado com variações no processo de descongelamento da massa fermentada para a fabricação da muçarela uma vez que para a diferença observada foi encontrado um coeficiente de variação baixo (6,54 - 7,55%).

Dentre os ácidos graxos saturados, os ácidos palmítico (C16:0), mirístico (C14:0) e esteárico (C18:0) foram os que apresentaram maiores porcentagens na fração lipídica da muçarela de búfala, assim como relato de Ménard et al. (2010) em leites bubalino e bovino. Sendo no presente trabalho observada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para o ácido mirístico (C14:0), em que no tempo de congelamento para o queijo estocado por 0 dias houve uma redução quando comparado aos demais tempos de refrigeração.

A composição em ácidos graxos da gordura do leite de bovídeos é obtida em partes de ácidos graxos pré-formados (oriundos da dieta ou mobilizados de reservas corporais) do sangue. Aproximadamente 40% do ácido palmítico e dos ácidos graxos

com 18 ou mais átomos de carbono possuem esta origem (CHILLIARD, 2000), sendo que o ácido palmítico está entre os ácidos graxos saturados comprovadamente relacionados com os problemas de saúde (CALDEIRA, 2010).

Entre os ácidos graxos hipercolesterolêmicos encontram-se os ácidos palmítico (30,16%) e mirístico (9,30%). O que tem se buscado é uma redução desses ácidos graxos nos produtos de origem animal a fim de melhorar a imagem desses produtos junto à opinião pública (CALDEIRA et al., 2009).

De acordo com Lottenberg (2009), o ácido palmítico eleva a concentração plasmática do colesterol e de LDL, isso pode ser explicado pelo fato das moléculas de ácidos graxos saturados empilharem-se de maneira coesa, por possuírem cadeias retilíneas de carbono, dessa forma aumenta a capacidade de transporte de colesterol das partículas de LDL.

No entanto, em estudo realizados testando os efeitos metabólicos do ácido esteárico (18:0) e ácido oléico (C18:1 cis 9) sobre os níveis de lipoproteínas plasmáticas observou-se uma redução no colesterol total no plasma durante o consumo da dieta rica em ácido esteárico em ácido oléico. O teor de ácido oléico no plasma aumentou significativamente durante o período da dieta com ácido esteárico, o que sugere que o ácido esteárico é rapidamente convertido em ácido oléico. Conclui-se que o ácido esteárico parece ser tão eficaz como o ácido oléico na redução dos níveis de colesterol no plasma quando é feita uma substituição do ácido palmítico na dieta (BONANOME, 1988).

Os ácidos graxos insaturados (AGI) são extremamente importantes para a saúde humana (MIHAYLOVA & PEEVA, 2007). No presente trabalho observou-se efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para a muçarela fabricada com massa congelada sobre os isômero C18:1 cis 9 (ácido oléico) e C18:1 trans16 (ácido vacênico). A maior porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados foi de ácido oléico (C18:1 cis 9), 25,91% e o teor médio de isômeros trans de C18: 1 variou entre 3,90% e 4,19%. Entre os ácido graxos insaturados o que mais se destaca é o ácido oléico (C18:1), com ênfase para o cis 9 (KAY, et al., 2004).

Estudos têm demonstrado que o consumo de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, reduzem o nível de colesterol no organismo (BRANDÃO et al., 2005). Observou-se variação significativa ( $P < 0,05$ ) para o C18:3 n3 (ácido-  $\alpha$ - linolênico), que apresentou-se em pequenas quantidades na muçarela de búfala tendo sofrido uma possível redução ao longo do tempo de estocagem sob congelamento. Os benefícios da

ingestão de ácidos graxos poli-insaturados estão associados principalmente ao sistema cardiovascular, entretanto o que mais se destaca é o complexo ômega-3 (ácido linolênico) (MATEOS et al., 1999).

Em geral os produtos lácteos são fontes dietéticas de CLA, isso se explica pelo fato deste isômero ser o produto intermediário da biohidrogenação ruminal de ácidos graxos poli-insaturados especialmente dos ácidos linoléico e linolênico (NAGPAL et al. 2007). A gordura da muçarela de búfala era pobre no que diz respeito aos ácidos gordos poli-insaturados 1,18%, referente ao ácido rumênico (C18:2 cis-9 trans 11).

Em trabalho realizado por Hogstrom et al. (2007) foi evidenciado que os ácidos graxos ômega-3 contribuem para o crescimento do corpo e são benéficos para a saúde dos ossos. Testes realizados com animais tem sugerido que os ômega-3 podem atenuar as perdas óssea pós-menopausa.

### **5.2.1 Qualidade nutricional**

A partir da composição em ácido graxos é possível avaliar a qualidade nutricional da fração lipídica da muçarela. Sendo assim, foram calculados o Índice de Aterogenicidade (IA), Índice de Trombogenicidade (IT), Ácidos graxos desejáveis (AGD) e a razão entre n-6 e n-3. Para os índices que determinam a qualidade nutricional a partir da composição de ácidos graxos na muçarela foi verificada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para os somatórios de ácidos graxos saturados ( $\sum$ AGS) que apresentou redução e monoinsaturados ( $\sum$ AGM) que apresentou aumento em relação aos demais tempos de refrigeração. Para a interação entre os tempos de congelamento e de refrigeração da muçarela de búfala fabricada a partir da massa fermentada congelada não foi observada diferença (Tabela 6).

Poucos são os trabalhos que relatam os índices IT e IA para muçarela de búfala. Nesta pesquisa foram encontrados valores médios para o queijo de búfala fabricado a partir da massa congelada em torno de 2,70 para índice de aterogenicidade e 4,20 para índice de trombogenicidade. Esses valores encontram-se próximos aos encontrados por Fernandes et al., (2010) que apresentaram IA variando entre 1,49 e 2,35 para leite de búfala e valores mais distantes para IT os quais obtiveram valores entre 9,72 e 10,25.

**Tabela 5.** Valores médios relativos aos somatórios de ácidos graxos e índices de qualidade nutricional da muçarela de búfala armazenada sob refrigeração por diferentes tempos fabricada a partir da massa fermentada congelada por diferentes períodos.

Índices de qualidade nutricional	Tempo de congelamento					Tempo de Refrigeração				Valores de P		CV	
	0	40	80	120	160	0	10	20	30	Cong	Refri		Ref x cong
$\sum\text{AGS}^1$	60,89	61,19	61,34	61,29	61,26	55,77	61,44	60,77	61,58	0,45	0,01 <sup>*1</sup>	0,23	2,00
$\sum\text{AGM}^2$	25,36	25,15	25,07	25,05	25,14	33,96	24,98	25,48	24,96	0,42	0,01 <sup>*2</sup>	0,21	4,07
$\sum\text{AGPI}^3$	1,30	1,29	1,28	1,28	1,28	1,52	1,29	1,31	1,26	0,97	0,18	0,84	6,74
$\sum\text{n-6}^4$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,86	0,07	19,72
$\sum\text{n-3}^5$	0,09	0,10	0,09	0,10	0,10	0,40	0,10	0,10	0,09	0,57	0,01 <sup>*3</sup>	0,05	21,48
$\sum\text{n-6}/\sum\text{n-3}^6$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	-	-
<b>IA</b> <sup>7</sup>	2,70	2,72	2,73	2,80	2,72	1,82	2,74	2,69	2,78	0,79	0,20	0,59	10,60
<b>IT</b> <sup>8</sup>	4,22	4,27	4,31	4,29	4,29	2,07	4,43	4,19	4,22	0,61	0,43	0,44	6,92
<b>AGD</b> <sup>9</sup>	41,33	41,31	41,21	40,43	41,35	48,31	41,25	41,42	40,39	0,32	0,56	0,21	4,92

Eq<sup>1</sup>  $\hat{Y} = 0,012x^2 + 0,532x + 56,16$ ; Eq<sup>2</sup>  $\hat{Y} = 0,021x^2 + 0,899x + 33,43$ ; Eq<sup>3</sup>  $\hat{Y} = -0,031x + 0,384$ ; <sup>1</sup>Somatório de Ácidos Graxos Saturados (4:0, 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 14:0, 16:0, 18:0); <sup>2</sup>Somatório de Ácidos Graxos Monoinsaturados (C18:1 cis9, C18:1 trans, C18:1 trans 16); <sup>3</sup>Somatório de Ácidos Graxos poli-insaturados (C18:2 cis9 trans11, C18:3 n6, C18:3 n3); <sup>4</sup>Somatório dos Ômega – 6; <sup>5</sup>Somatório dos Ômega – 3; <sup>6</sup>Relação entre os ácidos graxos da família Ômega – 6 e Ômega – 3; <sup>7</sup>Índice de Aterogenicidade; <sup>8</sup>Índice de Trombogenicidade; <sup>9</sup>Ácidos graxos Desejáveis.

Não foi verificada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as amostras analisadas para a concentração de ácidos graxos desejáveis (AGD) na muçarela de búfala. A concentração desses ácidos graxos apresentou em torno de 40% da composição lipídica para os diferentes tempos de congelamento da massa fermentada e tempos de refrigeração da muçarela. Esses resultados podem estar associados ao teor de AGD do leite de búfala utilizado na fabricação da muçarela, pois Fernandes et al. (2005) encontraram no leite de búfala valores entre 38,08 e 47,17 para esse somatório.

Para Costa et al. (2008) a maior concentração de AGD está relacionada com o processo de biohidrogenação ruminal, relacionando-se com o ácido esteárico, que juntamente com os ácidos graxos insaturados compõem os ácidos graxos desejáveis.

Para o cálculo do índice de trombogênicidade consideram-se os ácidos graxos mirístico, palmítico e esteárico pró-trombogênicos, enquanto que os insaturados são considerados anti-trombogênicos sendo que os monoinsaturados e os poli-insaturados ômega-6 são menos anti-trombogênicos que os poli-insaturados ômega-3 (COSTA et al., 2008).

Não há valores recomendados para os índices de aterogenicidade e trombogênicidade o que se considera é que valores mais baixos exprimem uma relação de ácidos graxos mais favoráveis, por indicarem o potencial de estímulo à agregação plaquetária, sendo assim, a redução dos valores desses índices representa um efeito benéfico uma vez que previnem o aparecimento de doenças (Assunção, 2007; Turan et al., 2007)

As diferenças encontradas para os índices nutricionais estão relacionados ao perfil de ácidos graxos de cada alimento, o leite possui maiores concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (C4 – C6) e média (C6 – C10) (NUERMBERG et al., 2008).

O congelamento da massa fermentada pode ser um procedimento viável para solucionar o problema da falta de derivados de leite de búfala no período de entressafra, pois de maneira geral as características do queijo não foram afetadas. Sendo assim, a técnica pode ser utilizada sem prejudicar a qualidade nutricional dos queijos.

## 6 CONCLUSÕES

A muçarela de búfala fabricada a partir da massa fermentada congelada de leite de búfala não teve sua qualidade final comprometida em relação à composição centesimal, perfil de ácidos graxos e qualidade nutricional. Entretanto, avaliando os efeitos sobre a composição em ácidos graxos, foi verificado que o congelamento exerceu influência reduzindo o percentual do ácido capróico (C6:0), ácido caprílico (C8:0), ácido cáprico (C10:0), ácido mirístico (C14:0), ácido oléico (C18:1 cis9), ácido vacênico (C18:1 trans16) e ácido linolênico (C18:3 n6) para os queijos que não foram estocados sob refrigeração (tempo 0).

A composição centesimal da muçarela de búfala foi afetada apenas pelo tempo de congelamento da massa diminuindo sua capacidade de retenção de água e gordura, porém aumentou os teores de proteína.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, F. R., CARVALHO, L. B., SILVA, N.; BRITO, J. R. F., SOUZA, G. N., Composição e contagem de células somáticas em leite bubalino na região do Alto São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Revista Instituto Laticínio Cândido Tostes**, v. 59, p. 37-41, 2004.

AMARAL, F. R., CARVALHO, L. B. de., SILVA, N. da., BRITO, J. R. F., Qualidade do leite de búfalas: composição. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.19, n.02, p. 106-110, 2005.

ANDRIGHETTO, C., Cadeia Produtiva do Leite de Búfala – Visão da Universidade, In: II Simpósio da Cadeia Produtiva da Bubalinocultura, Botucatu. **Anais...** Botucatu, 2011.

ARAÚJO, T. P. M., RANGEL, A. H do N., SOARES, A. D., LIMA, T. C. C. de., JÚNIOR, D. M. de L., NOVAES, L. P., Influência das Estações do Ano Sobre a Composição do Leite de Búfalas Mantido em tanque de resfriamento, **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.07, n.01, p. 1-5, 2011.

ASSUNÇÃO, J. M. P. **Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos Açores**, 2007. 113p. Dissertação (mestrado), Universidade de Lisboa, Lisboa.

BASTIANETTO, E., BARBOSA, J. D., Diferenças fisiológicas entre bubalinos e bovinos: Interferência na produção. **Revista Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 1-17, 2009.

BAUMAN, D. E., BAUMGARD, L. H., CORL, B. A., GRIINARI, J. M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, v.48, p.1-15, 1999.

BELURY, M. A., Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 505-531, 2002.

BITTENCOURT, R. H. F.P de M., **Requeijão Marajoara e Queijo Minas Frescal Produzido com Leite de Búfalas (*Bubalus bubalis*, Lin.) no Estado do Pará**, 2011. 106p. Tese (Doutorado) Universidade Federal Fluminense, Niterói.

BOBE, G., ZIMMERMAN, S., HAMMOND, E. G., FREEMAN, G., LINDBERG, G. L., DONALD, C. B., Texture of butters made from milks differing in indices of atherogenicity. **Iowa State University Animal Industry Report. Dairy**. 3 p. 2004.

BONANOME, M. D., and SCOTT, M., GRUNDY, M. D., Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. **The New England Journal of Medicine**, v. 318, p. 1244-1248, 1988.

BRANDÃO, P. A., COSTA, F. G. P., BARROS, L. R., NASCIMENTO, G. A. J. do.; Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 26, n. 1, p. 5-14, 2005.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p.1-24.

BRASIL. Portaria nº 364, de 4 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de identidade e Qualidade de Queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarela). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília – DF. 8 set. 1997. Seção 1.

CALDEIRA, L. A., FERRÃO, S. P. B., FERNANDES, S. A. A., MAGNAVITA, A. P. A., SANTOS, T. D. R.; Índices de qualidade nutricional da fração lipídica do leite de búfalas da raça Murrah produzido em diferentes fases de lactação. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.4, p. 545 – 554, 2010.

CARMO, C. M. **Obtenção do Shelf Life em Queijo Mozzarella Baseado na Avaliação Quantitativa e Qualitativa dos Grupo Coliformes e Estafilococos**, 2006. 108p. Dissertação (mestrado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.

CARVALHO, E. B. T.; MELO, I. L. P.; MANCINI-FILHO, J.; Chemical and physiological aspects of isomers of conjugated fatty acids. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n.2, p. 295-307, 2010.

CARVALHO, N. A. T. de., BERNARDES, O., BARUSELLI, P. S., Desestacionalização dos Partos para a Produção de leite de Búfalas a pasto no centro Sul do Brasil. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, nº 2, 2011.

CARVALHO, N. A. T. de., Produção e reprodução de búfalas leiteiras na UPD de registro: Um modelo tecnológico de sucesso. **Revista Pesquisa & Tecnologia**, v. 11, n. 1, 2014.

CAVALCANTE, F. de M., **Produção de Queijo Gouda, Gruyère, Mussarela e Prato**, 2004, Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Católica de Goiás, Goiás 2004.

CHILLIARD, Y., FERLAY, A., DOREAU, M., Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**, v. 70, p. 31-48, 2001.

CHILLIARD, Y., FERLAY, A., MANSBRIDGE, R. M., DOREAU, M., Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. **Annales Zootechnia**, v. 49, p. 181-205, 2000.

CHRISTIE, W.W., A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v. 23, p. 1072, 1982.

COSTA, E.N., LACERDA, E.C.Q., SANTOS, S.M.S., SANTOS, C.M.S., FRANCO, M., SILVA, R.R., SIMIONATO, J.I. Action of successive heat treatments in bovine milk fatty acids. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.0, n.0, p.1-6, 2011.

COSTA, R. G., MESQUITA, I. V. U., QUEIROBA, R. C. R. E., MEDEIROS, N. A., CARVALHO, F. F. R., BELTRÃO FILHO, E. M., Características químicas e sensoriais do leite de cabra Moxotó alimentadas com silagem de maniçoba. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 37, p. 694-702, 2008.

DAMASCENO, F.A., VIANA, J. M., TINÔCO, I. de F. F., GOMES, R. C. C. G., SCHIASSI, L., Adaptação de Bubalinos ao Ambiente Tropical, **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 7, n. 5, p. 1370-1381, 2010.

DE PETERS, E. J., CANT, J. P., Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine Milk: A review. **Journal Animal Science**, v 75, p. 2043-2050, 1992.

DIETSCHY, J. M., Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentration. **Journal Nutritive**, v.128, n. 2, p. 444-448, 1998.

EIFERT, E. da C., LANA, R. de P., LANNA, D. P. D., TEIXEIRA, R. M. A., ARCURI, P. B., LEÃO, M. I., OLIVEIRA, M. V. M. de., VALADARES FILHO, S. de C., Perfil de ácidos graxos e conteúdo de ácido linoléico conjugado no leite de vacas

alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1829-1837, 2006.

FAGUNDES, G. M., MODESTO, E. C., SOUZA, V. C. de.; Ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada do leite. **Revista de Ciências da Vida**, v. 32, n. 2, p 23-33, 2012.

FEHILY, A. M., PICKERING, J. E., YARNELL, J. W. G., ELWOOD, P. C., Dietary indices atherogenicity and thrombogenicity and ischaemic heart disease risk: the Caerphilly prospective study. **British Journal Nutrition**, 71, p. 249-257, 1994.

FERNANDES, S. A. A., MATTOS, W. R. S., MATARAZZO, S. V., GAMA, M. A. S., MALHADO, C. H. M., ETCHEGARAY, M. A. L., LIMA, C. G., Indices of atherogenicity and thrombogenicity in Milk fat from Buffaloes raised under different feeding systems. **Revista Veterinária**, v.21, p. 562-563, 2010.

FERNANDES, S. A. A., MATTOS, W. R. S., MATARAZZO, S. V., TONHATI, H., Avaliação da produção e qualidade do leite de rebanhos bubalinos no estado de São Paulo. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 60, p. 53-58, 2005.

FERRASSO, M. de M., SILVEIRA, D. R., BISOL, L. B., SILVA, C. S. J., TIMM, C. D., GONZALEZ, H. de L., Composição físico-química do leite de búfalas da região do Rio Grande do Sul. In: 38 Conbravet, 2011, Florianópolis/SC. 38. **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2011.

FERREIRA, I. C. S., **Tratamento Terciário da Indústria de Laticínios Através da Adsorção de Lactose em Argila Esmectítica**, 79p. 2007. Dissertação (mestrado) Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

FIGUEIREDO, E. L., JUNIOR, J de B. L., TORO, M. J. U., Caracterização Físico-química e Microbiológica do Leite de Búfala “In Natura” Produzido no Estado do Pará. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 04, n. 01 p. 19-28, 2010.

FOLCH, J., LEES, M., STANLEY, G. H., A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n.1, p. 497-509, 1957.

GOUVÊA, M. M., FRANCO, C. F. J., MARQUES, F. F. C., PEREIRA NETTO, A. D., Ácidos Linoleicos Conjugados (ALC) – Os benefícios que exercem sobre a saúde humana e as principais metodologias analíticas aplicadas para sua determinação em leites. **Revista Virtual Química**, v. 4, n. 6, p. 653-669, 2012.

GREGGIO, J. M., CARVALHO, M. R. B., MODESTO, V. C., AIURA, F. S., Qualidade nutricional do queijo mussarela produzido em sistema orgânico e convencional. In: III Congresso Paulista de Nutrição Humana, IV Congresso Paulista de Nutrição Clínica e I Encontro Nacional sobre saudabilidade alimentar, 2006, São Paulo, **Anais...** 2006.

GRUNDY, S.M., DENKE, M.A., Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **Journal Lipid Reserch**, v.31, p.1149-1172, 1990.

HARWOOD, J. L., Plant acyl lipids: structure, distribution and analyses. In: STUMPF, P. K., CONN, E. E. (Ed). **The biochemistry of plants**, New York: Academic Press. v. 4, p. 1-55, 1980.

HIRAYAMA, K. B., SPERIDIÃO, P. G. L., NETO, U. F., Ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa. **The Eletronic Journal of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Liver Diseases**, v. 10, n. 3, 2006.

HOGSTROM, M., NORDSTROM, P., NORDSTROM, A., N-3 fatty acids are positively associated with peak bone mineral density and bone accrual in healthy men: the NO<sub>2</sub> study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85 p. 803-807, 2007.

HU, F. B., MANSON, J. E., WILLET, W. C., Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: A critical review. **Journal of the American College of Nutrition**, v.20, p. 5-19, 2001.

IAL. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** / coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. - 4<sup>a</sup> edição. 1<sup>a</sup> edição digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1020 p, 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal – 2011**, 2012. Efetivo dos Rebanhos: Animais existentes em 31/12 , Rio de janeiro, 2012. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts/00000010444810212012482617926711.pdf>>. Acesso em: 26 Set. 2013.

JOSEPH, J. D. & ACKMAN, R. G. Capillary column gas-chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl-esters - Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.75, n.3, p.488-506, 1992.

KATITI, L. M., BONASSI, I. A., ROÇA, R. de O., Aspectos físico-químicos e microbianos do queijo maturado por mofo obtido da coagulação mista com leite de cabra congelado e coalhada congelada. **Revista Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 26 n. 4 p.740-743, 2006.

KAY, J. K., MACLE, T. R., AULDIST, M. J., THOMSON, N. A., BAUMAN, D. E., Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 2, p. 369-378, 2004.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., COX, M. M., Lipídeos. IN: Princípios de Bioquímica. São Paulo: Ed. Sarvier, p. 39-47, 1998.

LENINGHER, A. L. Princípios de Bioquímica. 4ª ed. São Paulo: Ed. Sarvier, 839p. 2006.

LIN, D.S., CONNOR, W.E., WOLF, D.P., NEURINGER, M., HACKEY, D.L., Unique lipids of primate spermatozoa: desmosterol and docosahexaenoic acid. **Journal of Lipid Research**, v. 34, p.491-499, 1993.

LUNA, P., JUÁREZ, M., FUENTE, M. A. de la., Conjugated linoleic acid content and isomer distribution during maturing in three varieties of cheeses protected designation of origin. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1465-1472, 2007.

MARTIN, C. A., ALMEIDA, V. V. de., RUIZ, M. R., VISENTAINER, J. E. L., MATSHUSHITA, M., SOUZA, N. E. de., VISENTAINER, J. V., Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v.19, n. 6 p. 761-770, 2006.

MARTINS, K. C. R., DORTA, C., TANAKA, A., SANTOS, A. B. dos., MENDOZA-SANCHEZ, G., PARDO, R. B., Estudo das Características Microbiológicas da Muçarela de Búfala Comercializada no Município de Marília/SP. **Revista Alimentus**, v. 01., n. 01, p. 81, 2011.

MARTINS, M. B., SUAIDEN, A. S., PIOTTO, R. F., BARBOSA, M., Propriedades dos ácidos graxos poliinsaturados omega – 3 obtidos de óleo de peixe e óleo de linhaça. **Revista Instituto Ciência e Saúde**, v.26, n. 02, p. 153-156, 2008.

McMAHON, D. J., PAULSON, B., OBERG, C. J., Influence of Calcium, pH, and Moisture on Protein Matrix Structure and Functionality in Direct-Acidified Nonfat Mozzarella Cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 3754-3763, 2005.

- McMAHON, D. J., FIFE, R. L., OBERG, C. J., Water partitioning in mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n.7, p. 1361-1369, 1999.
- MCMURRY, J., Química Orgânica, 4ª ed., vol. 2, LTC, Rio de Janeiro, 1997.
- MELÍCIO, S.P.L., CARVALHO, M.R.B.C., TONHATI, H., MUNARI, D.P., HOLGADO, A.P.R., LAROSA, G., AIURA, F.S., Composição química do leite de Búfala da raça Murrah na região de São Carlos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 60, n.346-347, p.7-12, 2005.
- MÉNARD, O., AHMAD, S., ROUSSEAU, F., BRIARD-BION, V., GAUCHERON, F., LOPEZ, C. Buffalo vs. cow milk fat globules: Size distribution, zeta-potential, 81 compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. **Food Chemistry**, v.120, p.544–551, 2010.
- MIHAYLOVA, G., PEEVA, T., Trans fatty acids and conjugated linoleic acid in the buffalo Milk. **Italian Journal of Animal Science**, v.6, n.1, p. 1056-1059, 20707.
- MOREIRA, N. X., CURI, R., MANCINI-FILHO, J., Ácidos Graxos: uma revisão. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 24, p. 105-123, 2002.
- NAGPAL, R., YADAV, H., PUNIYA, A. K., SINGH, K., JAIN, S., MAROTTA, F., Conjugated linoleic acid: Sources, synthesis and potential health benefits – an overview. **Current Topics Nutraceutical Research**, v. 5, p 55-65, 2007.
- NAYDENOVA, N., KAISHEV, T. L., MIHAYLOVA, G., Fatty acids profile, atherogenic and thrombogenic health indices of white brined cheese made from buffalo milk. **Agricultural Science and Technology**, v.6, n. 3, p. 352-355, 2014.
- NICOLOSI R. J., WOOLFREY, B., WILSON, T. A., SCOLLING, P., HANDELMAN, G., FISHER, R., Decreased aortic early atherosclerosis and Arranz J and associated risk factors in hypercholesterolemic hamsters fed a high and mid-oleic acid oil compared to a highlinoleic acid oil. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.15, p. 540-547.
- NOVELLO, D., FRANCESCHINI, P., QUINTILIANO, A. D., A importância dos ácidos graxos  $\omega - 3$  e  $\omega - 6$  para a prevenção de doenças e na saúde humana. **Revista Salus**, v. 2, n. 01, p. 77-87, 2008.

NUERMBERG, K., FISCHER, A., NUERMBERG, G., ENDER, K., DANNEMBERGER, D., Meat quality and fatty acid composition of lipids in muscle and fatty tissue of Skudde lambs fed grass versus concentrate. **Small Ruminant Research**, 2008; v 74, p 279-283.

NUNES, J. C., TORRES, A. G., Fatty acid and CLA composition of Brazilian dairy products, and contribution to daily intake of CLA, **Journal of food composition and analysis**, v. 23, p. 782-789, 2010.

OLIVEIRA, A. de L., Búfalos: produção, qualidade de carcaça de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.29, n.2, p. 122-134, 2005.

OLIVEIRA, R. L., LADEIRA, M. M., BARBOSA, M. A. A. F., MATSUSHITA, M., SANTOS, G. T., BAGALDO, A. R., Composição química e perfil de ácidos graxos do leite e de muçarela de búfalas alimentadas com diferentes fontes de lipídeos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n.3, p.736-744, 2009.

OLIVEIRA, S. G., SIMAS, J. M. C., SANTOS, F. A. P., Principais aspectos relacionados à alterações no perfil de ácidos graxos na gordura do leite de ruminantes. **Archives of Veterinary Science**, v.9, n.1, p. 73-80, 2004.

OLIVIERI, D. A., **Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de mercado de queijo muçarela, elaborado a partir de leite de búfala (Bubalus bubalis)**. Piracicaba, 2004. 61p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PADRE, R.G., PADRO, I. N., VISENTAINER, J. V., SOUZA, N. E., MATSUSHITA, M., Ácido linoleico conjugado em carnes. **Revista Nacional de Carne**, n. 339, p. 30-32, 2005.

PALMQUIST, D. L., BEAULIEU, A. D., BARBANO, D. M., Feed and animal factors influencing Milk fat composition. **Journal Dairy Science**, v. 76, n. 3, p. 1753-1771, 1993.

PARIZA, M.W., Park, Y., Cook, M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v. 40, n. 4, p. 283- 298, 2001.

PELAEZ, C., Congelación de cuajadas. **Alimentaria**. n. 144, p. 19-22, 1983.

- PEREIRA, M. N., Manipulação nutricional da composição do leite. In: CARVALHO, M. P., SANTOS, M. V., Estratégia e competitividade na cadeia de produção do leite. Passo Fundo: Editora Berthier. p. 187, 1993.
- PIETROWSKI, G. de A. M., RANTHUM, M., CROZETA, T., JONGE, de V., Avaliação da Qualidade Microbiológica de Queijo Tipo Mussarela Comercializado na Cidade de Ponta Grossa, Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.02, n. 2. p. 25-31, 2008.
- RAMOS FILHO, M. M., RAMOS, M. I. L., HIANE, P. A., SOUZA, E. M. T., Nutritional values of seven freshwater fish species from the brazilian pantanal. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 87, p. 1461-1467, 2010.
- RAMOS, M. I. L., SIQUEIRA, E. M. A., ISOMURA, C. C., BARBOSA, A. M. J., & ARRUDA, S. F., Bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood) improved vitamin A status in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, p. 3186-3190, 2007.
- RODRIGUES, C. F.de C., IAPICHINI, J. E. C. B., LISERRE, A. M., SOUZA, K. B. de., FACHINI, C., REICHERT, R. H., Oportunidades e Desafios da Bubalinocultura Familiar da região Sudoeste Paulista, **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, v. 1, n.2, 2008.
- ROMANO, R., GIORDANO, A., CHINAESE, L., ADDEO, F., MUSSO, S.S. Triacylglycerols, fatty acids and conjugated linoleic acids in Italian Mozzarella di Bufala Campana cheese. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.24, p.244-249, 2011.
- RUBIO-RODRIGUEZ, N., BELTRÁN, S., JAIME, I., DE DIEGO, S. M., SANZ, M. T., ROVIRA CARBALLIDO, J., Production of omega – 3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 1-12, 2010.
- SANTINI, G. A., BERNARDES, O., SCARPELLI, J. U., Análise das relações comerciais do segmento de processamento de leite e derivados de leite de búfala no estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 43, n. 5, p 69-84, 2013.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**, Version 8.2 5<sup>th</sup> ed. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2001. 846p.

- SEÇKIN, K. A., GURSOY, O., KINIK, O., AKBULUT, N., Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products. **Food Science and Technology**, v.38. p. 909-915, 2005.
- SILVA, B. C. da., **Efeito do congelamento e do tempo de armazenamento nos queijos Petit Suisse processado com diferentes espessantes**. Lavras, 2012. 70p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.
- SILVA, M. M. C. da., RODRIGUES, M. T., BRANCO, R. H., RODRIGUES, A. F., SARMENTO, J. L. R., QUEIROZ, A. C. de., SILVA, S. P. da., Suplementação de lipídios em dietas para cabras em lactação: consumo e eficiência de utilização de nutrientes. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 257-267, 2007.
- SMEDMAN, A., VESSBY, B., Conjugated linoleic acid supplementation in humans metabolic effects. **Lipids**, v.36, n. 8, p.773-781, 2001.
- TEIXEIRA, L. V., BASTIANETTO, E., OLIVEIRA, D. A. A., Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 2, p. 96-100, 2005.
- TONHATI, H., resultados do controle leiteiro em bubalinos. *Bubalinos: Sanidade, Reprodução e Produção*; 1999; Jaboticabal, São Paulo: Funep. p. 90-109.
- TURAN, H., SONMEZ, G., KAYA, Y., Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray ( *Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal Fish Science**, v.1, n.2, p.97-103, 2007.
- ULBRICHT, T. L. V., SOUTHGATE, D. A. T., Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, 1991; 338 (8773): 985-92.
- VAN NIEUWENHOVE, C. P., GONZÁLEZ, S. N., PÉREZ CHAIA, A., PESCE, A., Conjugate linoleic acid in buffalo (*Bubalus bubalis*) milk from Northwest Argentina. **Milchwissenschaft – Milk Science International**, v.59, p. 506-508, 2004.
- VERRUMA, M. R., SALGADO, J. M., Análise Química do Leite do Leite de Búfala em Comparação ao Leite de Vaca. **Scientia Agricola**, v. 51, p. 131-137, 1994.
- VIANNI, R., BRAZ-FILHO, R., Ácidos graxos naturais: Importância e ocorrência em alimentos. **Revista Química Nova**, v. 19, 1996.
- VIEIRA, M. C., CAVICHILOLO, J. R., FACHINI, C., LISERRE, A. M., SOUZA, K. B. de., RODRIGUES, C. F. de C., VAN DENDER, A. G. F., Viabilidade econômica da

implantação de uma unidade industrial para a produção de mozzarella e de massa coagulada, fermentada e congelada de leite de búfala. **Informações Econômicas**, SP, v. 39, n. 10, 2009.

VISENTAINER, J. V. & FRANCO, M. R. B., **Ácidos Graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação**. São Paulo: Varela, 2006. 120p.

ZAMBOM, M. A., SANTOS, G. T., MODESTO, E. C., Importância das gorduras poliinsaturadas na saúde humana. **Revista Sociedade Brasileira Zootecnia**, p. 547-553, 2004.

ZHANG, R. H., MUSTAFA, A. F., NG-KWAI-HANG, K. F., ZHAO, X., Effects of freezing on composition and fatty acid profiles of sheep milk and cheese, **Small Ruminant Research**, v. 64, p. 203-210, 2006.