Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia

do Rio de Janeiro.

Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Campus Rio de Janeiro

Thaiza Serrano Pinheiro de Souza

Caracterização físico-química de iogurte e bebida láctea fermentada

Rio de Janeiro - RJ

2015

Thaiza Serrano Pinheiro de Souza

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE IOGURTE E BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Renata Santana Lorenzo Raices

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Simone Lorena Quitério de Souza

Rio de Janeiro- RJ

2015

Ficha catalográfica elaborada por
Francielly Domingues Q. Pereira

Revisada por
Cintia dos Santos Madureira
CRB7 6613

S719 Souza, Thaiza Serrano Pinheiro de.
Caracterização físico – química de iogurte e bebida láctea fermentada / Thaiza Serrano Pinheiro de Souza. – Rio de Janeiro, 2015.
111 f. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, 2015.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Santana Lorenzo Raices
Orientadora: Profa. Dra. Simone Lorena Q. de Souza

1. Bebidas Fermentadas – Iogurte – Análise. I. Raices, Renata Santana Lorenzo. II. Souza, Simone Lorena Quitério de. III. Título.

IFRJ/CMAR/CoBib CDU 637.13

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE IOGURTE E BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Data da aprovação: 27 de maio de 2015

Prof.ª Dr.ª Renata Santana Lorenzo Raices (Orientadora)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Profa. Dr.ª Simone Lorena Quitério (Orientadora)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Prof. Dr. ª Adriana Cristina de Oliveira Silva
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Rafael Berrelho Bernini
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Adriano Gomes da Cruz
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro - RJ
2015

Agradecimentos

À Deus que esteve comigo nos momentos mais difíceis e me ajudou a superar todas as dificuldades.

À minha mãe Eliane, minha avó Ruth, meu irmão Thiago, minha tia Heloiza e ao meu noivo Paulo Vitor que sempre me apoiam e incentivam com muito carinho e paciência.

Às minhas orientadoras Renata e Simone pelos ensinamentos, ajuda, disponibilidade e contribuição no meu crescimento profissional.

Ao mestre Sabaa pelos ensinamentos de vida, sempre me ajudando e apoiando nos momentos em que mais precisei.

Aos membros da banca, Adriana Cristina da UFF, Rafael Bernini e Adriano Cruz do IFRJ que contribuíram muito para o aprimoramento deste trabalho.

Aos técnicos e amigos Jeremias, Hannah e Larissa que formam fundamentais para a realização deste trabalho, sempre com boa vontade e disponibilidade.

Aos técnicos Diego (UERJ) e Paula (UFRJ) e aos professores Luna (UERJ) e Mirian (UFRJ) que contribuíram nas realizações das análises de minerais e composição centesimal.

Aos meus amigos de turma e professores do mestrado pelo convívio e aprendizado.

SOUZA, T.S.P. Caracterização físico-química de iogurte e bebida láctea fermentada. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Maracanã. Cidade do Rio de Janeiro, RJ, 2015.

RESUMO

A grande procura por alimentos funcionais e o aumento da renda da população brasileira nos últimos anos levaram a maior demanda no consumo de leite e seus derivados. Desta forma, o iogurte e a bebida láctea fermentada se destacam por ser de prática utilização, por promoverem benefícios à saúde, além de auxiliar na prevenção do aparecimento de determinadas doenças. O consumidor tem buscado categorias de produto com maior valor agregado, pois há uma preocupação crescente com a saúde e com a qualidade de vida. Este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a caracterização físico-química de dez amostras comerciais de iogurte e dez bebidas lácteas fermentadas sabor morango, a partir das análises de composição centesimal (umidade, proteínas e lipídios), minerais (Ca, Fe, K, Mg, Na, Cd, Pb, Cr, Cu e Mn), ácidos orgânicos (ácido cítrico, lático, acético e fórmico), ácidos graxos (cadeia curta, cadeia média, cadeia longa, saturados, insaturados e poliinsaturados) e identificação dos voláteis. Foi observado com base nas técnicas analíticas utilizadas que quanto à avaliação da composição centesimal, a umidade apresentou valores próximos entre as amostras analisadas, o teor de proteína esteve dentro do esperado segundo as legislações vigentes e os teores de lipídios em iogurte respeitaram as faixas de porcentagem exigidas pela legislação, já nas amostras de bebida láctea fermentada, estiveram abaixo. Quanto ao teor médio de minerais majoritários (Ca, Fe, K, Mg e Na), foram obtidos valores próximos entre as matrizes analisadas, sem diferença estatística, exceto o magnésio. Já entre os minerais minoritários (Cd, Cr, Cu, Mn e Pb), todos estiveram abaixo do limite de detecção. Quanto aos ácidos orgânicos, o ácido cítrico e o lático foram detectados em todas as amostras analisadas em ambas as matrizes, já o fórmico foi detectado apenas nas amostras de bebida lática e o acético em poucas amostras tanto de iogurte quanto bebida láctea fermentada, mas foi o ácido orgânico que apresentou o maior teor médio. O ácido palmítico apresentou as maiores concentrações entre os ácidos graxos saturados de cadeia longa, enquanto o ácido oleico apresentou os maiores teores entre os ácidos graxos monoinsaturados, entre os ácidos graxos poliinsaturados, foram detectados o CLA e o ALA. Entre os compostos voláteis mais importantes detectados, tem-se: acetaldeído, acetona, etanol e 2-3 butanodiona (diacetil). Concluiu-se que iogurte e bebida láctea fermentada são produtos de composição semelhante.

Palavras chave: Iogurte, bebida láctea fermentada, composição centesimal, minerais, ácidos orgânicos, ácidos graxos e voláteis.

SOUZA, T.S.P. *Physical and chemical characterization of yogurt and fermented dairy beverages. Master Thesis in Food Science and Technology.* Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Maracanã. *City of* Rio de Janeiro, RJ, 2015.

.

ABSTRACT

The high demand for functional foods and the increasing income of the population in recent years have led to greater demand in the consumption of milk and dairy products. Thus, the yogurt and fermented dairy beverages stand out for being of practical use to promote health benefits, and besides help prevent certain diseases. The consumer is looking for product categories with higher aggregate value, because there is a growing concern for the health and quality of life. This study aimed to evaluate and compare the physico-chemical characterization of ten commercial samples of yogurt and ten fermented dairy beverages in strawberry flavor, from the analyzes of chemical composition (moisture, proteins and lipids), minerals (Ca, Fe, K , Mg, Na, Cd, Pb, Cr, Cu and Mn), organic acids (citric, lactic, acetic and formic), fatty acids (short chain, medium chain, long chain, saturated, unsaturated and polyunsaturated) and identification of volatile. It was observed based on the analytical techniques used that in assessment of the chemical composition, the moisture presented close values between the samples, the protein content was as expected according to the current legislation and the lipid content in yogurt were in agreement with the percentage ranges required by legislation and were below in samples of fermented milk drink. As for the medium content of mineral majoritarian (Ca, Fe, K, Mg and Na), similar values were obtained, with no statistical difference except magnesium. Among the minority minerals (Cd, Cr, Cu, Mn and Pb), all were below the detection limit. As the organic acids, citric acid and lactic acid were detected in all samples analyzed in both matrices while formic acid was detected only in samples of fermented dairy beverages and Acetic acid was detected in a few samples of yoghurt and fermented dairy beverages, but was the organic acid that shows the highest average content.. The palmitic acid showed the highest concentrations among long chain saturated fatty acid, whereas oleic acid had the highest levels between the monounsaturated fatty acid, between the polyunsaturated fatty acid were detected CLA and the ALA. Among the most important volatile compounds detected, it has: acetaldehyde, acetone, ethanol and 2-3 butanedione (diacetyl). It was concluded that yogurt and fermented milk drink are similar products.

***Keywords**: Yogurt, fermented dairy beverages, chemical composition, minerals, organic acids, fatty acids and volatile*.

Índice de Figuras

Figura 1 - Esquema da formação do iogurte a partir da fermentação 7
Figura 2 - Equipamento de ICP-OES..... 18
Figura 3 – Equipamento CLAE 21
Figura 4 – Equipamento CG-EM..... 26
Figura 5 - Principais compostos voláteis presentes em iogurte..... 28
Figura 6 - Esquema da análise de umidade 32
Figura 7 – Esquema da análise de proteínas pelo método *Kjeldahl*..... 34
Figura 8 - Esquema da análise de lipídios totais 35
Figura 9 – Esquema da análise de minerais por ICP-OES 36
Figura 10 - Esquema da análise de ácidos orgânicos por CLAE-DAD..... 37
Figura 11 - Esquema da análise de ácidos graxos por CG-EM..... 39
Figura 12 – Esquema da análise dos voláteis por MEFS-CG-EM 40

Índice de Quadros

Quadro 1 - Análise comparativa entre *S. thermophillus e L. bulgaricus* 5
Quadro 2 – Composição típica de soro doce e de soro ácido 10
Quadro 3 – Teor de proteína e de lipídios segundo a legislação brasileira 11
Quadro 4 - Ingestão Recomendada Diária (IRD) de minerais 14
Quadro 5 - Limite de Ingestão Máxima Tolerável (UL) dos minerais 14
Quadro 6 - Técnicas analíticas segundo diferentes autores 18
Quadro 7 - Técnicas analíticas segundo diferentes autores 21
Quadro 8 - Ácidos graxos e suas estruturas condensadas 23
Quadro 9- Técnicas analíticas para ácidos graxos segundo diferentes autores 26
Quadro 10 - Técnicas analíticas para voláteis segundo diferentes autores 30

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Resultados de outros autores de análises de composição centesimal 12
Tabela 2 - Médias dos teores de umidade, proteína e lipídeos em iogurte e bebidas lácteas e seus respectivos teores segundo a legislação..... 42
Tabela 3 – Teor de minerais majoritários nas amostras analisadas..... 43
Tabela 4 – RDA dos minerais segundo o estágio da vida 45
Tabela 5 – Porcentagem ingerida de minerais em 100g de iogurte e bebida láctea ... 45
Tabela 6 - Teor de minerais minoritários nas amostras analisadas..... 46
Tabela 7 – Concentrações médias dos ácidos orgânicos nas amostras analisadas ... 48
Tabela 8 – Concentrações médias dos ácidos graxos nas amostras analisadas 51
Tabela 9 – Compostos voláteis identificados 58
Tabela 10 – Resumo geral dos resultados obtidos 65
Tabela 11 – Teor de umidade das amostras em triplicata 84
Tabela 12 - Teor de proteínas das amostras em triplicata..... 84
Tabela 13 - Teor de lipídios das amostras em duplicata..... 85
Tabela 14 - Teor de cálcio das amostras em duplicata..... 86
Tabela 15 - Teor de ferro das amostras em duplicata..... 86
Tabela 16 - Teor de potássio das amostras em duplicata 86
Tabela 17 - Teor de potássio das amostras em duplicata 87
Tabela 18 - Teor de sódio das amostras em duplicata 87
Tabela 19 - Teor de ácido cítrico das amostras em triplicata..... 88
Tabela 20 - Teor de ácido lático das amostras em triplicata..... 88
Tabela 21 - Teor de ácido fórmico das amostras em triplicata 89
Tabela 22 - Teor de ácido acético das amostras em triplicata..... 89
Tabela 23 - Teor de C4:0 das amostras em duplicata 90
Tabela 24 - Teor de C6:0 das amostras em duplicata 90
Tabela 25 - Teor de C8:0 das amostras em duplicata 91
Tabela 26 - Teor de C10:0 das amostras em duplicata 91
Tabela 27 - Teor de C12:0 das amostras em duplicata 91
Tabela 28 - Teor de C14:0 das amostras em duplicata 92
Tabela 29 - Teor de C14:1n9 das amostras em duplicata 92
Tabela 30 - Teor de C15:1n10 das amostras em duplicata 92
Tabela 31 - Teor de C16:0 das amostras em duplicata 93
Tabela 32 - Teor de C16:1n9 das amostras em duplicata 93
Tabela 33 - Teor de C18:0 das amostras em duplicata 94

Tabela 34 - Teor de C18:1n9 das amostras em duplicata 94
Tabela 35 - Teor de C18:2n6 das amostras em duplicata 94
Tabela 36 - Teor de C18:3n3 das amostras em duplicata 95
Tabela 37 - Teor de C20:0 das amostras em duplicata 95
Tabela 38 - Identificação dos voláteis nas amostras feita em duplicata..... 96

Lista de Abreviações de Símbolos

AG - Ácidos Graxos

AGCC - Ácidos graxos de cadeia curta

AGCL - Ácidos graxos de cadeia longa

AGCM - Ácidos graxos de cadeia média

ALA - *Alpha Linolenic Acid* - Ácido Alfa Linolênico

ANOVA - *Analysis of variance*

BAL - Bactérias Ácido Láticas

BHT - Di-terc-butil metil feno

CGAR-DIC - Cromatografia Gasosa de Alta Resolução com detector por Ionização por Chama

CG-EM - Cromatografia Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas

CLA - *Conjugated Linoleic Acid* - Ácido Linoleico Conjugado

CLAE-DAD - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por Arranjo de Diodo

DHA - Ácido Graxo Docosahexaenóico

DVB/CAR/PDMS - Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane

EFS – Eluição em fase sólida

EPA - Ácido Graxo Eicosapentaenóico

FAAS - Espectroscopia de absorção atômica de chama

FAME - *Fatty acid methyl esters* – Éter metílico de ácido graxo

HDL - *High Density Lipoprotein* - Lipoproteínas de Alta Densidade

HGAAS - *Hydride generation atomic absorption spectrometric* - Espectroscopia de absorção atômica por geração de hidretos

ICP-OES - *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* - Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplada

IN - Instrução Normativa

IRD - Ingestão Recomendada Diária

IRL - Índice de Retenção Linear

LDL - *Low Density Lipoprotein* - Lipoproteínas de Baixa Densidade

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MEFS-CG-EM - Microextração em Fase Sólida acoplada a Cromatografia Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas

MUFA - *Monounsaturated Fatty Acids* - Ácidos Graxos Monoinsaturados

NIST - *National Institute of Standards and Technology*

PEAD - Polietileno de Alta Densidade

PUFA - *Polyunsaturated Fatty Acids* - Ácidos Graxos Poliinsaturados

SIF – Serviço de Inspeção Federal

UHT - *Ultra High Temperature* - Ultra alta temperatura

UL - *Tolerable Upper Intake Level* - Limite de Ingestão Máxima Tolerável

UV-Vis - *Ultraviolet–visible spectroscopy* - Espectroscopia no ultravioleta visível

Sumário

INTRODUÇÃO **1**
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **4**
1.1. IOGURTE **4**
1.2. BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA **7**
1.2.1. Soro do leite 9
1.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL **11**
1.4. MINERAIS **13**
1.5. ÁCIDOS ORGÂNICOS **19**
1.6. ÁCIDOS GRAXOS **22**
1.7. VOLÁTEIS **27**
2. MATERIAIS E MÉTODOS **31**
2.1. IOGURTE COMERCIAL **31**
2.2. BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA COMERCIAL **31**
2.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL **32**
2.3.1. Umidade 32
2.3.2. Proteína 33
2.3.3. Lipídios 34
2.4. ANÁLISE DO TEOR DE MINERAIS **35**
2.5. ANÁLISE DE ÁCIDOS ORGÂNICOS **36**
2.6. ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS **37**
2.7. ANÁLISE DE VOLÁTEIS **39**
2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA **40**
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO **41**
3.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL **41**
3.2. MINERAIS **43**
3.3. ÁCIDOS ORGÂNICOS **48**
3.4. ÁCIDOS GRAXOS **51**
3.5. VOLÁTEIS **58**
3.6. RESUMO GERAL DAS ANÁLISES **64**
4. CONCLUSÃO **67**
BIBLIOGRAFIA **68**
ANEXOS **84**
ANEXO I **84**
ANEXO II **86**
ANEXO III **88**
ANEXO IV **90**
ANEXO V **96**

INTRODUÇÃO

O consumidor está percebendo e buscando categorias de produto com maior valor agregado, pois houve um aumento da preocupação com a saúde e com a qualidade de vida (NIELSEN, 2012, SILVA, 2007). Essa característica leva o consumidor a procurar alimentos mais saudáveis, inovadores, seguros, de prática utilização e com alguma propriedade funcional (LIMA *et al*., 2002).

Além disso, estes produtos lácteos apresentaram um aumento considerável de consumo no Brasil onde o iogurte aumentou em 157% seu consumo entre 1999 e 2008, e neste mesmo período, a bebida láctea aumentou em 164% o consumo (DATAMARK, 2009).

Alguns derivados lácteos, como iogurte e bebida láctea fermentada, são considerados alimentos funcionais, ou seja, contem ingredientes alimentares capazes de promover benefícios à saúde. Esses nutrientes proporcionam bem-estar e saúde e contribuem na prevenção do aparecimento de determinadas doenças (HALSTED, 2003, SILVA, 2007). Além disso, as bebidas fermentadas constituem uma parte importante da dieta humana, pois a fermentação é uma maneira de preservar o alimento, melhorando o seu valor nutritivo e reforçando as suas propriedades sensoriais (OZER e KIRMACI, 2010).

O iogurte é uma matriz complexa que apresenta um alto teor de componentes orgânicos e constitui uma rica fonte de cálcio, carboidratos, fósforo, proteínas e vitaminas (TEIXEIRA *et al*., 2000, BRANDÃO *et al*., 2010). E a bebida láctea fermentada, contem soro de leite (subproduto da indústria de laticínios) e sua composição apresenta quantidade significativa de lactose e de proteínas de elevado valor biológica, ou seja, possui boa digestibilidade e quantidades adequadas de aminoácidos essenciais (JARDIM, 2012, HARAGUCHI *et al*., 2006).

A principal diferença entre o iogurte e a bebida láctea é o valor nutritivo. O teor de proteínas no iogurte deve ser no mínimo de 2,9% e na bebida láctea pode variar de 1,0 a 1,7%. No iogurte o máximo de ingredientes não lácteos é de 30%, já em bebidas lácteas pode chegar a 49% (BRASIL, 2007). Além disso, o iogurte apresenta consistência mais pastosa, por ser mais rico em sólidos totais, enquanto a bebida láctea, devido à incorporação de soro de leite, apresenta consistência mais líquida (THAMER e PENNA, 2006).

Na literatura não há uma avaliação criteriosa quanto à identificação e quantificação de cada componente presente em iogurtes e bebidas lácteas

fermentadas. Com estas informações seria possível definir com maior rigor as propriedades nutricionais desses produtos, além de caracterizar claramente a relação entre o produto e sua funcionalidade. Essas informações podem ser obtidas através de uma avaliação físico-química, com as seguintes análises: composição centesimal, presença de minerais, ácidos orgânicos, ácidos graxos e voláteis.

Desta forma, trata-se de um estudo inovador que identifica, quantifica e compara os componentes que irão determinar os valores nutricionais dos produtos alvo, evidenciando claramente as diferenças e semelhanças entre iogurtes e bebidas lácteas fermentadas.

Este estudo tem como objetivo geral caracterizar iogurtes e bebidas lácteas fermentadas sabor morango a partir da determinação de parâmetros físico-químicos intrínsecos.

Como objetivos específicos, pode-se destacar:

- Determinar a composição centesimal, a partir da quantificação do teor de umidade, proteínas e lipídios em dez amostras de iogurte e dez de bebida láctea fermentada;
- Identificar e quantificar o teor de minerais majoritários (Ca, Fe, K, Mg, Na) e minoritários (Cd, Cr, Cu, Mn Pb) a partir de Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplada (ICP-OES);
- Identificar e quantificar ácidos orgânicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por Arranjo de Diodo (CLAE-DAD);
- Identificar e quantificar os ácidos graxos por Cromatografia Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas (CG-EM);
- Determinar o perfil de voláteis por Microextração em Fase Sólida acoplada a Cromatografia Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas (MEFS-CG-EM).

O trabalho realizado será apresentado em quatro capítulos:

No primeiro capítulo é apresenta a revisão bibliográfica, destacando-se os aspectos gerais relacionados ao mercado consumidor, legislação, benefícios à saúde, processo de fabricação e perspectivas em relação ao iogurte e a bebida láctea fermentada, assim como a avaliação dos parâmetros físico-químicos intrínsecos e suas respectivas técnicas analíticas.

No segundo capítulo são descritos o preparo das dez amostras de iogurte e dez de bebida láctea fermentada e as determinações dos seguintes parâmetros: teor de umidade, lipídios, proteína, minerais, ácidos orgânicos, ácidos graxos e perfil de voláteis.

No terceiro capítulo, são apresentados os resultados das avaliações físico-químicas e suas respectivas discussões.

E no quarto capítulo são apresentadas as conclusões do estudo.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentada a revisão bibliográfica referente ao iogurte e a bebida láctea fermentada, bem como das análises de composição centesimal, minerais, ácidos orgânicos, ácidos graxos e voláteis.

1.1. IOGURTE

O iogurte é um produto feito a partir de leite tratado termicamente, homogeneizado e com a adição de duas culturas iniciadoras e a partir destas culturas, ocorre a fermentação lática do leite, com a consequente diminuição do pH variando de 5,3 para aproximadamente 4,6 (BAGLIO, 2014).

Atualmente, é considerado como um “superalimento”, apontando melhoras à saúde, contribuindo no combate ao envelhecimento, na prevenção da diabetes, da hipertensão, da doença de Alzheimer e de câncer, contribuindo assim com o aumentando da longevidade dos consumidores (SERAFEIMIDOU *et al*. 2013). É um alimento funcional, capaz de promover benefícios à saúde, além da nutrição básica com vitaminas e minerais que complementam a dieta alimentar (HALSTED, 2003).

A grande procura por alimentos funcionais e o aumento da renda da população brasileira nos últimos anos levaram a maior demanda no consumo de leite e seus derivados. Segundo uma pesquisa da Folha de São Paulo (2012) houve um aumento de 23% no consumo *per capita* de lácteos entre 2007 e 2012 e de 53% no consumo de iogurtes em 2011.

A aquisição de iogurte per capita anual entre 2008-2009 mostrou uma média de 2,05 Kg ano^{-1} entre as grandes regiões do Brasil, onde a região que apresentou maior consumo foi a região Sul com 2,62 Kg ano^{-1}, seguido da região Sudeste com 2,30 Kg ano^{-1} (IBGE, 2010).

Segundo o regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2007), iogurte é o produto obtido pela fermentação láctea através da ação do *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sobre o leite integral, desnatado ou padronizado. Normalmente estes dois microrganismos são utilizados por causa do crescimento associado que ocorre entre eles (TAMIME, 2002).
O iogurte é fermentado pela mistura destas duas culturas de bactérias ácido lácticas. A importância delas é promover uma rápida acidificação, fermentando os carboidratos

e os transformando em ácido lático, ácido acético, ácido fórmico e etanol. Desta forma, preserva a parte microbiológica do leite, modifica a textura do produto, melhora o valor nutricional e forma aromas específicos (SMID e KLEEREBEZEM, 2014).

Os microrganismos utilizados na fermentação do io gurte apresentam uma relação de sinergia no leite, metabolizando lactose em ácido lático causando a redução do pH (SFAKIANAKIS E TZIA, 2014). O *L. bulgaricus* produz enzimas que degradam a caseína, liberando assim peptídeos e aminoácidos que são utilizados como fatores de crescimento do *S. thermophillus.* Este último por sua vez, produz ácido lático a partir da degradação da lactose, liberando ácido fórmico e dióxido de carbono, que estimulam o crescimento do *L. bulgaricus* (SACCARO, 2008).

Uma análise comparativa entre estes dois microrganismos presentes no iogurte é apresentada no Quadro 1.

Quadro 1 - Análise comparativa entre *S. thermophillus* e *L. bulgaricus*

Streptococcus thermophillus	***Lactobacillus bulgaricus***
Temperatura ótima entre 35 e 53^{0}C	Temperatura ótima entre 40 e 44^{0}C
Menor tolerância à acidez	Maior tolerância à acidez
Produz compostos utilizados pelo *L. bulgaricus*	Responsável pelos compostos aromáticos
Produz ácido fórmico que estimula *o L. bulgaricus*	Libera vanila, glicina, lipases e histidina - fatores de crescimento para o *S. thermophillus*
Consome oxigênio	É proteolítico
Grã positiva	Grã positiva
Forma esférica	Forma de bastonete

Fontes: SACCARO, 2008, SFAKIANAKIS E TZIA, 2014**.**

As culturas lácteas apresentam sensibilidade aos diversos tipos de antibióticos e isto resulta na mudança da velocidade de acidificação das culturas na fermentação, podendo até não ocorrer esta etapa tão importante (CRUZ, 2010). Por isso, é necessário que sejam adotadas as boas práticas na obtenção e manuseio do leite até a chegada à indústria, evitando-se a presença de micotoxinas, resíduos de antibióticos e pesticidas. Além disso, a contagem de células somáticas deve ser mantida nos valores mínimos estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2002).

Sendo o iogurte um produto lácteo fermentado, onde tem como fundamento a atuação das culturas lácteas, pode haver interferência de um ou mais fatores

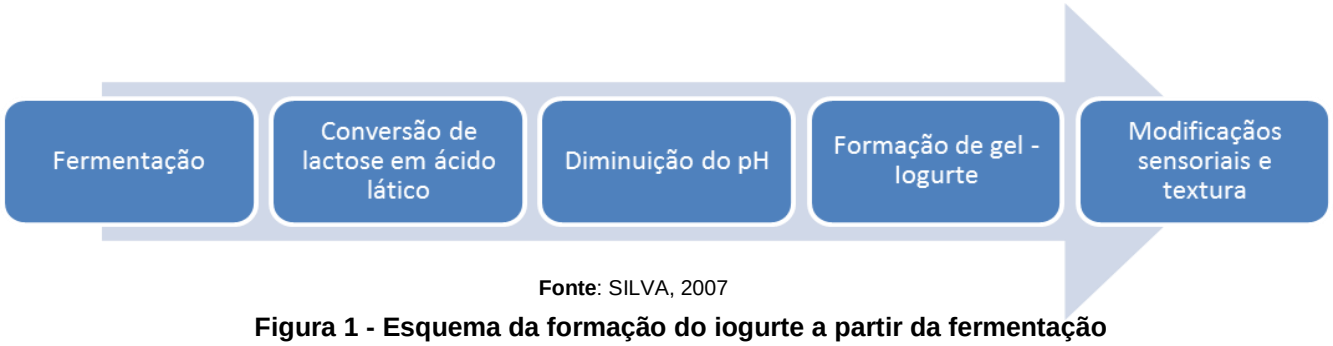
mencionados que podem causar a inibição da cultura, comprometendo o desenvolvimento do produto e seus parâmetros de qualidade (CRUZ, 2010).

Quanto ao tratamento térmico, o leite destinado à fabricação de iogurtes pode ser submetido ao binômio tempo-temperatura na faixa 85 a 98°C por 20 segundos a 7 minutos (TAMIME e ROBINSON, 2007). Esses parâmetros proporcionam segurança ao produto final já que destroem patógenos, microbiota, enzimas endógenas e inibidores (CRUZ, 2010). Além disso, contribuem para as propriedades funcionais do produto, pois promove a desnaturação das proteínas do soro e posterior formação de um complexo entre elas (LUCEY, 2004).

O processo de fermentação do iogurte começa com o transporte da lactose do leite na membrana do *S. thermophillus,* através da enzima permease galactosídio. A lactose é então hidrolisada na célula a partir da lactase ou da β-galactosidase e são produzidos altos níveis de lactase pelo *S. thermophillus*. A lactase por sua vez catalisa a hidrólise da lactose em glucose e galactose. A glucose é convertida em piruvato, que é metabolizado a ácido lático a partir da enzima desidrogenase lática. É diminuída a tensão de oxigênio, pois o *S. thermophillus o* consome, então ocorre o crescimento do *L. bulgaricus*, que é auxiliado pelos aminoácidos liberados pelas peptidadeses secretadas pelo *S. thermophillus.* Ambas as bactérias aceleram o processo de fermentação, mas ao aturem juntas, pois individualmente elas não seriam capazes (SFAKIANAKIS E TZIA, 2014).

Quando é atingido um pH de 5,0, a atividade do *S. thermophillus* diminui gradualmente e o *L. bulgaricus* domina o processo global da fermentação até que seja alcançado o pH alvo e é então cessado o processo de fermentação. Normalmente a fermentação termina abaixo de 4^0C, onde a cultura ainda está viva, mas tem a sua atividade drasticamente diminuída, permitindo o controle do aroma durante o armazenamento e na distribuição final do produto (SFAKIANAKIS E TZIA, 2014).

Resumidamente, na fermentação ocorre a conversão da lactose em ácido lático, entre outros subprodutos que influenciam as características sensoriais do iogurte. A degradação da lactose favorece a redução do pH, ocorrendo assim a precipitação das proteínas do leite. O ácido lático resultante desta fermentação leva a desestabilização da micela de caseína provocando a coagulação no ponto isoelétrico (pH 4,6 – 4,7) e formando um gel, que é o iogurte, conforme ilustrado na Figura 1 (SILVA, 2007).



Fonte: SILVA, 2007

Figura 1 - Esquema da formação do iogurte a partir da fermentação

A formação do gel no leite é medida pela coagulação ácida, devido à atividade dos fermentos e suas enzimas que hidrolisam a lactose e as proteínas. Os fatores envolvidos na dissociação e agregação da caseína durante a coagulação ácida são o pH, a concentração de íons e a temperatura (TAMIME, 2002).

O iogurte é comercialmente disponível em diferentes teores de gordura declarada, sendo esta gordura padronizada entre 0,1 e 10,0% do volume total, tendo como o objetivo de uniformizar a composição do produto final. A adição de polpas de frutas e de cereais é uma tendência do mercado de iogurtes que tem como objetivo o atendimento ao mercado consumidor e a busca pela indústria por inovações e produtos diversificados (CRUZ, 2010).

Podem-se encontrar três tipos de iogurte quanto à textura. No tradicional, a fermentação ocorre dentro da embalagem, não há quebra do coágulo e pode ser natural, aromatizado ou tipo *sundae*. No cremoso, a fermentação ocorre em tanques, o coágulo é quebrado por suave agitação e posteriormente embalado, podendo ser natural ou aromatizado (frutas, geleias e polpas). No iogurte líquido, a fermentação ocorre em tanques, onde o coágulo é quebrado por agitação mais intensa, podendo ser natural ou aromatizado (frutas, polpas e sucos) (ROBERT, 2008). A diferença fundamental entre os tipos de iogurte consiste na etapa de rompimento do gel, onde há maior severidade para o iogurte líquido em relação ao batido e inexistente no iogurte firme (CRUZ, 2010).

1.2. BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA

Segundo Lerayer *et al.* (2002), a bebida láctea é um leite fermentado que vem se destacando como “substituto” do iogurte. Por isso, é um produto facilmente confundido pelo consumidor que não conhece as características deste alimento. Este tipo de bebida surgiu como um produto alternativo ao iogurte que apresenta um custo menor, mas com características sensoriais comuns, dada à semelhança entre eles (CASTRO, 2012).

A participação deste tipo de bebida no mercado tem se ampliado graças às suas características nutricionais, com a presença de proteínas (alfa lactoalbulina, beta lactoalbulina, albumina e imunoglobulinas) que apresentam um excelente perfil de aminoácidos, sendo assim consideradas proteínas de alto valor biológico, além de apresentar diferentes propriedades funcionais por causa dos peptídeos bioativos do soro (exorfinas, imunopeptídeos e fosfopeptídeos) (HARAGUCHI *et al.*, 2006, JARDIM, 2012).

As bebidas lácteas fermentadas já representam 25% do total de iogurtes e bebidas lácteas disponíveis no mercado brasileiro. O preço atrativo foi uma das principais razões para o crescimento do mercado deste produto, além do baixo custo para o fabricante, devido ao uso do soro de leite no processamento (PFLANZER *et al.*, 2010, JARDIM, 2012).

Entende-se por bebida láctea fermentada o produto lácteo obtido a partir de leite ou leite reconstituído e/ou derivados de leite, fermentado mediante a ação de cultivo de microrganismos específicos e/ou adicionado de leite fermentado e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação, com ou sem adição de outros ingredientes, em que base láctea representa pelo menos 51% do total de ingredientes do produto. Sendo exigido constar no rótulo que o produto contém soro de leite e que não é iogurte (BRASIL, 2005 b).

A legislação brasileira para bebidas lácteas é pouco específica quanto ao nível máximo de soro permitido nas formulações, faltando assim informações quanto ao nível exato de soro que deve ser adicionado nas formulações que resulte em uma adequada aceitação por parte dos consumidores (CASTRO, 2012).

Para a fermentação de bebidas lácteas, os microrganismos utilizados são os mesmos que da produção de iogurte, que são capazes de fermentar a lactose em ácido lático, conferindo a esses alimentos características sensoriais semelhantes, como acidez, aroma e viscosidade. Este fato leva a associação da imagem das bebidas lácteas ao iogurte, pois possui características próximas. Assim, as bebidas lácteas têm apresentado grande aceitabilidade pelos brasileiros, resultando no aumento do consumo desses alimentos (CASTRO, 2012).

O procedimento de preparo da bebida láctea fermentada segue os princípios básicos para elaboração de iogurte. A bebida láctea fermentada é o produto resultante da mistura de leite e soro de leite, fermentado mediante a ação do cultivo de microrganismos específicos ou de leite fermentado e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação (SENAR, 2009).

As bebidas contendo soro de leite são uma realidade no mercado brasileiro atualmente. Elas podem ser processadas de diversas maneiras como UHT (*Ultra High*

Temperature), pasteurização, fermentadas de forma semelhantes ao iogurte, "*soft-drinks*", carbonatadas e em diversos sabores, como morango, chocolate e frutas cítricas, e apresentam um mercado consumidor bastante promissor (LIMA *et al.*, 2002).

1.2.1. Soro do leite

A utilização tecnológica do soro para a formulação de bebidas lácteas começou a ser investigada graças às suas propriedades terapêuticas. Desde então alguns estudos tem relatado os inúmeros benefícios da ingestão de soro à saúde humana (HARAGUCHI *et al*, 2006, CASTRO, 2012). Durante décadas essa parte do leite era dispensada pela indústria de alimentos. Somente a partir dos anos 70, os cientistas passaram a estudar as propriedades das proteínas do soro, que são extraídas da porção aquosa do leite geradas durante o processo de fabricação do queijo (HARAGUCHI *et al*, 2006).

Entre as funcionalidades do soro de leite, pode-se destacar seu poder antioxidante, anti-hipertensivo, antitumoral, antiviral, antibacteriano e agente quelante (MARSHALL, 2004, YALCIN, 2006, KRISSANSEN, 2007). Algumas pesquisas demonstram que o soro tem uma importante contribuição na nutrição esportiva, por causa dos altos níveis de aminoácidos essenciais, controle do peso corporal, pois age como regulador do metabolismo lipídico, saúde cardíaca e também construção óssea (KLEIBEUKER, 2009).

Sendo o soro de leite um líquido residual obtido a partir da coagulação enzimática do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína, a utilização do soro na elaboração de bebidas lácteas constitui-se uma forma racional e sustentável de aproveitamento deste subproduto, não havendo prejuízo ao meio ambiente (BRASIL, 2005 b, JARDIM, 2012), além de ser uma fonte de nutrientes, como lactose, cálcio, proteínas e vitaminas solúveis (MAGENIS *et al.,* 2006). Contudo, a bebida láctea fermentada apresenta menor teor de proteína quando comparada ao iogurte (LAZZARINI, 2009).

Segundo Tagliari (2011), no ano de 2008 foram fabricadas 410 toneladas de bebida láctea no Brasil, gerando aproximadamente R$ 829 milhões em lucro. Bebidas a base de leite e soro de leite, representaram mais de 70% dos lançamentos globais em alimentos funcionais. A maioria das inovações no seguimento do uso de ingredientes funcionais associados ao uso de soro de leite como matéria prima ocorreu na Europa Ocidental (28%), na Ásia (24%), seguidas pela América Latina (18%) (BALDISSERA *et al*., 2011).

O soro de leite pode ser classificado segundo seu tipo de coagulação, podendo ser doce (obtido pela coagulação enzimática da caseína), ou ácido (obtido pela coagulação por bactérias láticas ou pela adição direta de ácido mineral ao leite) (BALDISSERA *et al.*, 2011).

No **Erro! Fonte de referência não encontrada.**Quadro 2 é apresentada a composição dos tipos de soro de leite.

Quadro 2 – Composição típica de soro doce e de soro ácido

Componentes	Soro Doce (g L^{-1})	Soro Ácido (g L^{-1})
Sólidos Totais	63,0 – 70,0	63,0 - 70,0
Lactose	46,0 - 52,0	44,0 - 46,0
Proteína	6,0 -10,0	6,0 - 8,0
Cálcio	0,4 - 0,6	1,2 - 1,6
Fosfato	1,0 - 3,0	2,0 - 4,5
Lactato	2,0.	6,4
Cloreto	1,1	1,1

Fonte: BALDISSERA *et al.*, 2011

Quanto à composição protéica, o soro possui proteínas de elevado valor biológico, pois elas têm rápida absorção pelo organismo quando ingeridas. O soro é uma fonte rica em aminoácidos de cadeia ramificada (>20% m m^{-1}) como: leucina, isoleucina e valina e em aminoácidos sulfurados como metionina e cisteína. As principais proteínas do soro são a β-lactoglobulina e a α-lactoalbumina, que representam aproximadamente 75% das proteínas do soro (CASTRO, 2012).

Os minerais majoritários compõem cerca de 350 mg 100 g^{-1} no soro ácido e 250 mg 100 g^{-1} no soro doce e são eles: o cálcio, o magnésio, o sódio, o potássio e o fósforo. Os minerais: zinco, ferro, cobre e manganês apresentam quantidades inferiores com cerca de 350 µg 100 g^{-1} no soro ácido e 100 µg 100 g^{-1} no soro doce (CASTRO, 2012 *apud* WONG *et al.*, 1978).

Estima-se que sejam geradas 6,03 milhões de toneladas de soro decorrente dos queijos produzidos no Brasil (SIQUEIRA *et al*., 2013). Por isso, há uma grande preocupação em gerar aplicabilidade ao soro de queijo em novos alimentos e evitar impactos ambientais, como despejo direto nos leitos dos rios e lagos, já que é um resíduo com alto teor orgânico (MAGALHÃES *et al*., 2011, GUEDES *et al*., 2013).

O soro de queijo é aproveitado tecnologicamente no desenvolvimento de formulações alimentares, possibilitando um maior controle de poluição ambiental gerado por esse resíduo, além de aumentar a produtividade e lucratividade das indústrias de laticínios no Brasil (SIQUEIRA *et al*., 2013).

1.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

O valor nutritivo dos alimentos é expresso a partir das análises da sua composição centesimal. Com este tipo de análise, podem-se determinar parâmetros descritos na legislação, como o teor de proteínas e de lipídios. Assim como a umidade, que está relacionada à estabilidade e composição dos alimentos.

Desta forma, pode-se avaliar o estado nutricional dos alimentos para desenvolver pesquisas sobre a relação entre dietas e doenças, e verificar se há adequação do consumo alimentar de um país (TORRES *et al*., 2000).

Segundo a legislação brasileira, o iogurte e a bebida láctea devem respeitar os teores de proteína e lipídios exigidos, conforme o Quadro 3.

Quadro 3 – Teor de proteína e de lipídios segundo a legislação brasileira

Matriz	Proteína (g 100 g^{-1})	Lipídios (g 100 g^{-1})
Iogurte (IN 46/2007)	Mínimo - 2,9	Integral - 3,0 a 5,9
		Parcialmente desnatado - 0,6 a 2,9
		Desnatado - máximo 0,5
Bebida Láctea (IN 16/2005)	Sem adições - mínimo 1,7	Mínimo - 2,0
	Com adições - mínimo 1,0	
	Com leite fermentado - mínimo 1,4	

Fonte: BRASIL, 2007 E BRASIL, 2005 b.

Para determinação de umidade, a técnica mais usual é o aquecimento da amostra direto em estufa a 105^{0}C, que é baseada na remoção da água por aquecimento. É um método simples, porém não é exato, pois depende da temperatura de secagem, da umidade relativa do ar e da pesagem da amostra a quente (CECCHI, 2003). A umidade corresponde à perda (em massa) sofrida pelo produto quando aquecido em condições nas quais a água é removida, podendo ser classificada em umidade de superfície (água livre ou presente na superfície externa) e umidade adsorvida (água ligada que encontra-se no interior do alimento) (IAL, 2008). A umidade está relacionada com a estabilidade, qualidade e composição do alimento. Em produtos lácteos fluidos, a umidade varia entre 87 e 91% (CECCHI, 2003).

A análise utilizada para quantificar as proteínas normalmente é o método *Kjeldahl* modificado, que é uma técnica comum, simples e econômica. Este método determina o teor de nitrogênio de origem orgânica, ou seja, o N proteico e não proteico orgânico (CECCHI, 2003). Ele se baseia em três etapas: digestão, destilação e titulação. A matéria orgânica é decomposta e o nitrogênio existente é transformado em

amônia. O conteúdo de nitrogênio das diferentes proteínas é aproximadamente 16% (IAL, 2008).

Para a determinação de gordura em laticinios, o método mais empregado é o de Gerber, baseado na quebra da emulsão do leite a partir da adição de ácido sulfúrico e álcool isoamílico na centrifugação. Posteriormente a gordura é determinada com auxílio de um lactobutirômetro (IAL, 2008).

Na Tabela 1 – Resultado de outros autores de análises de composição centesimal são apresentados resumos de resultados de análises de composição centesimal em alguns estudos encontrados na literatura.

Tabela 1 – Resultado de outros autores de análises de composição centesimal

Referência Bibliográfica	Matriz	Análise	Resultado
THAMER e PENNA, 2006	Bebida Láctea	Proteína (%)	2,11 ± 0,08
		Lipídios (%)	0,05 ± 0,05
MIGUEL *et al*., 2010	Iogurte	Proteína (%)	9,13 ± 0,20
		Lipídios (%)	0,72 ± 0,30
FARIA, 2010	Bebida Láctea	Proteína (%)	2,25 ± 0,02
		Lipídios (%)	1,90 ± 0,10
CRUZ, 2010	Iogurte	Proteína (%)	2,97 ± 0,05
		Lipídios (%)	2,63 ± 0,28
MEDEIROS *et al*, 2011	Iogurte	Umidade (g $100g^{-1}$)	78,87 ± 0,20
		Proteína (g $100g^{-1}$)	4,83 ± 0,01
		Lipídios (g $100g^{-1}$)	2,05 ± 0,01
CASTRO, 2012	Bebida Láctea	Umidade (g $100g^{-1}$)	80,8 ± 1,68
		Proteína (g $100g^{-1}$)	1,91 ± 0,41
		Lipídios (g $100g^{-1}$)	1,50 ± 0,58

No estudo de Thamer e Penna (2006), o teor de proteínas nas bebidas lácteas variou entre 1,96% e 2,46%. O maior valor obtido (2,46%) corresponde ao experimento que apresenta a menor porcentagem de soro de leite - 45%. O experimento com 1,93% de proteína foi realizado com 55% de soro de leite. Ou seja, quanto maior o teor de soro de leite, menor é o teor de proteína. E quanto aos lipídios, o valor variou entre 0% e 0,10%, uma vez que se utilizou leite desnatado, atendendo a legislação, que exige valor máximo de 0,5%.

No trabalho de Miguel *et al.* (2010) o teor de proteínas no iogurte lácteo apresentou com a média de 9,13% comparado com iogurtes comerciais de soja, com valor médio de 14,55%. O estudo demonstrou que ao adicionar soja ao produto, o teor de proteína aumenta. Para o teor de lipídios, o iogurte lácteo obteve concentração de 0,72% e o iogurte com soja 0,45%, demonstrando que o leite de soja tem menor teor de gordura do que o leite integral.

Faria (2010) analisou amostras de bebidas lácteas adicionadas à enzima transglutaminase microbiana e para teor de proteínas, obteve o resultado e 2,25%, o que está dentro da legislação e para o teor de lipídios 1,90%, o que está abaixo do que diz a legislação para bebidas lácteas (2,00%).

Cruz (2010) analisou a composição nutricional de amostras de iogurtes probióticos com a adição da enzima glicose oxidase e apresentaram níveis de proteínas entre 2,90 e 3,08%, estando a cima do exigido pela legislação (2,90%). Quanto ao teor de lipídios, foi observada variação entre 1,90 e 2,90%, sendo então classificados como iogurtes parcialmente desnatados (0,6 a 2,90%).

Mediros *et al.* (2011) obteve como resultado de proteínas (4,83%) valor de acordo com a legislação brasileira (acima de 2,90%) e quanto ao teor de lipídeos (2,05%), valor inferior ao mínimo estabelecido pela legislação brasileira que é de 3% por ser integral.

Castro (2012) avaliou o teor de umidade, proteína e lipídios em amostras comerciais de bebida láctea e obteve como resultados uma variação entre 78,41 a 82,34 g $100g^{-1}$ de umidade, 1,66 a 2,52 g $100g^{-1}$ de proteína e 0,93 a 2,05 g $100g^{-1}$ de lipídios. Desta forma, foi concluído que as análises atenderam à legislação brasileira para bebidas lácteas.

1.4. MINERAIS

Os elementos minerais estão presentes em alimentos de diversas formas químicas, denominados compostos complexos e íons livres. Geralmente, estão presentes em baixas concentrações nos alimentos. Entretanto, estas concentrações podem sofrer alterações complexas durante o processamento, o armazenamento e digestão dos alimentos. O papel principal destes elementos é fornecer uma fonte confiável de nutrientes essenciais de forma equilibrada e biodisponível (FENNEMA *et al*., 2008).

O teor de minerais em leite depende da genética, das condições ambientais, do tempo de lactação e o tipo de alimentação das vacas. Em produtos lácteos, pode variar de acordo com métodos de processamento e tecnologias aplicadas (MERDIVAN *et al*. 2004).

Alguns minerais são essenciais para manter o sistema metabólico do corpo humano, porém, em altos níveis, podem ter efeito tóxico (AYAR *et al*., 2009). Este alto nível pode ser formado no momento da fermentação de laticínios e também de acordo com métodos de processamento e tecnologias aplicadas (MERDIVAN *et al*. 2004).

Para cada mineral tem-se a Ingestão Recomendada Diária (IRD), que deve atender as necessidades de um nutriente para 97 a 98% dos indivíduos saudáveis do mesmo sexo e estágio de vida e o Limite de Ingestão Máxima Tolerável (UL - *Tolerable Upper Intake Level*), valor mais alto de ingestão diária prolongada de algum nutriente que não ofereça risco de efeito adverso a saúde a indivíduos de um estágio de vida ou sexo (PADOVANI *et al*., 2006).

O Quadro 4 apresenta a IRD e o Quadro 5 o UL dos minerais analisados.

Quadro 4 - Ingestão Recomendada Diária (IRD) de minerais

IRD	Homem	Mulher
Ca (mg)	1000	1000
Fe (mg)	8	18
K (mg)	4700	4700
Mg (mg)	420	320
Na (mg)	1500	1500
Cr (µg)	35	25
Cu (µg)	900	900
Mn (mg)	2,3	1,8

Fonte: Institute of Medicine, 2004
Para Cd e Pb não há IRD estabelecido

Quadro 5 - Limite de Ingestão Máxima Tolerável (UL) dos minerais

UL	Adultos
Ca (mg)	2500
Fe (mg)	45
Mg (mg)	350
Na (mg)	2300
Cu (µg)	10000
Mn (mg)	11

Fonte: Institute of Medicine, 2004
UL para magnésio representa a ingestão na forma de suplemento apenas e não inclui a ingestão do nutriente a partir do alimento e água
Para K, Cd, Cr e Pb não há UL estabelecidos

O chumbo (Pb) e o cádmio (Cd) não são considerados nutrientes essenciais pois não têm nenhuma função no organismo (FENNEMA *et al*., 2008). Desta forma não apresentam IDR ou UL. Estes metais podem estar presentes em produtos lácteos devido a possíveis fontes de contaminação por máquinas utilizadas na produção dos alimentos, meio ambiente, saneamento ou agricultura (AYAR *et al*., 2009).

O cálcio (Ca^{+}) é fundamental para a obtenção de uma massa óssea ótima durante as duas primeiras décadas de vida e auxilia na prevenção da osteoporose em adultos e idosos (UMBELINO *et al.,* 2001). É um nutriente essencial que participa de funções biológicas como a contração muscular, coagulação sanguínea, transmissão

do impulso nervoso e o suporte estrutural do esqueleto, além de prevenir a osteoporose, hipertensão arterial, obesidade e câncer de cólon (PEREIRA *et al.*, 2009).

A única fonte de cálcio disponível para o organismo humano é aquela proveniente da dieta (LERNER *et al.*, 2000). As principais fontes alimentares de cálcio são o leite e seus derivados, sendo o iogurte uma ótima fonte deste nutriente (PEREIRA *et al.*, 2009). O soro de leite além de propriedades funcionais tem elevado valor nutricional e cálcio (JARDIM, 2012). Sendo o soro de leite um dos principais ingredientes em bebida láctea, espera-se observar a presença deste composto neste tipo de produto.

O ferro (Fe^{2+}) tem como funções o transporte de oxigênio (hemoglobina e mioglobina), respiração e metabolismo energético (citocromos e proteínas sulfuradas com cobre) e síntese de DNA (ribonucleico redutase). Sua deficiência apresenta como efeitos a fadiga, anemia, prejuízos à capacidade de trabalho enfraquecimento da função cognitiva e enfraquecimento de resposta imune. As principais fontes em alimentos de ferro são: carnes, cereais, feijão e vegetais verdes e folhosos (FENNEMA *et al*., 2008).

O potássio (K^{+}) regula a pressão osmótica e atua na atividade muscular e no metabolismo de carboidratos (KIRA, 2002). Suas principais fontes alimentares são: laticínios, carnes, cereais, frutas e vegetais (RAFFERTY e HEANEY, 2008).

O magnésio (Mg^{2+}) é o segundo cátion intracelular mais prevalente no organismo. Ele é um cofator em mais de 300 reações enzimáticas sendo essencial para o metabolismo de vários minerais e está associado à mineralização óssea (NAVARRO-ALARCÓN *et al*., 2011). As principais fontes deste mineral são: vegetais verdes folhosos, leite e grãos integrais (FENNEMA *et al*., 2008).

O sódio (Na^{+}) tem como funções: controlar o volume de líquido extracelular e a pressão sanguínea e é necessário para o transporte de nutrientes para fora das células. As principais fontes de sódio são os alimentos processados e preparados que contem variados teores de sódio adicionado (FENNEMA *et al*., 2008). O consumo de sal tem sido excessivo na maioria dos países nas últimas décadas, variando de 9 a 12 g por pessoa por dia, quando o recomendado pela OMS é de 5 g dia^{-1} (BROWN, 2009, NILSON *et al.*, 2012). O sódio está associado ao desenvolvimento de doenças crônicas, desde a hipertensão arterial e doenças cardiovasculares até o câncer de estômago, doenças renais, osteoporose, entre outros (NILSON *et al*., 2012).

No Brasil, será feita uma redução gradual dos teores de sódio estabelecida desde 2010 pelo Ministério da Saúde e pela Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação (ABIA). Esta redução será estabelecida por meio de metas com a

diminuição gradual entre 2011 até 2016, tendo em vista aspectos que incluem o desenvolvimento de novas tecnologias e formulações e a adaptação do paladar dos consumidores (NILSON *et al.*, 2012). Para os laticínios em geral, ainda não foi traçada uma meta de redução de sódio, mas estes produtos estão na lista dos que terão seu percentual de sódio reduzido.

O cádmio (Cd) é um metal predominantemente tóxico que tende a se concentrar no meio ambiente e em humanos (CANCELA e YEBRA, 2006). A utilização de fertilizantes fosfatados e de rejeitos industriais contendo cádmio pode aumentar a concentração deste elemento em terrenos e plantações agrícolas. O cádmio pode ser encontrado naturalmente em rochas fosfáticas utilizadas na fabricação de insumos agropecuários, constituindo-se assim uma importante fonte de contaminação ambiental (GONÇALVES *et al*., 2008). Na alimentação suas principais fontes são grãos e vegetais colhidos que crescem em solos contaminados (FENNEMA *et al*., 2008).

O chumbo (Pb) é um mineral que acumula-se no organismo e a sua ingestão prolongada pode causar efeitos tóxicos a partir de concentrações acima de 0,02 mg Kg^{-1} (GONÇALVES et al., 2008, BRASIL, 2013). As principais fontes de contaminação de chumbo na indústria de laticínios são: tubulações de chumbo, tanques revestidos de chumbo e armazenamento de bebidas em local com presença de esmalte cerâmica (AYAR *et al.*, 2009).

O cromo (Cr) está associado com o metabolismo da glicose (KIRA, 2002). A presença de concentrações elevadas (acima de 35 µg de ingestão diária) em laticínios pode ser devido à contaminação pelo uso de utensílios metálicos durante a produção, pois o cromo está presente no aço (GULER, 2006, BRASIL, 2005 a). Dentre as fontes alimentares de cromo destacam-se oleaginosas, aspargo, cogumelo, ameixa, cereais integrais, carnes, leguminosas e vegetais (GOMES *et al*., 2005).

O cobre (Cu) é o terceiro elemento traço mais abundante e é essencial para a saúde humana. No entanto, o excesso (acima de 900 µg de ingestão diária) de cobre pode provocar intoxicações com efeitos nocivos para a saúde, como a carcinogênise. Uma fonte de contaminação de cobre pode ser o contato com recipientes de metal e equipamento de processamento do leite (QIU et al., 2011, BRASIL, 2005 a, SEMEDO, 2014). Os alimentos que constituem a maiores fontes de Cu são: crustáceos, nozes, sementes, legumes, farelo e gérmen dos cereais (MACEDO *et al*., 2010).

O manganês (Mn) age como parte essencial das enzimas celulares que catalisam reações metabólicas importantes (KIRA, 2002). Este mineral tem se mostrado essencial em algumas espécies de animais e sua deficiência inclui crescimento retardado, função anormal dos ossos e cartilagem e diminuição da

tolerância à glicose (GOLDHABER, 2002). Suas principais fontes alimentares são: feijão, café e oleaginosas (PANZIERA *et al*., 2011).

Para análise dos minerais deve-se primeiramente realizar a digestão das amostras, sendo esta uma etapa crítica neste tipo de análise, devido ao tempo de preparação, ao risco de contaminação e perda de analitos, que podem contribuir para erros na determinação das devidas concentrações. Os métodos clássicos de digestão de amostras são por via úmida com ácidos (destruição da matéria orgânica por ácidos e/ou oxidantes) ou via seca (calcinação da matéria orgânica utilizando mufla) (KIRA e MAIHARA, 2007). Em ambos os procedimentos existe a possibilidade de contaminação e/ou perdas de elementos voláteis (como mercúrio, arsênico e selênio), além do fato de serem trabalhosos e de consumirem muito tempo (MORGANO *et al.,* 1999, KIRA, 2002).

O uso de microondas em procedimentos analíticos apresenta-se como uma tecnologia avançada e com excelente desempenho no pré tratamento de amostras de origem orgânica ou inorgânica (LIMA, 2010). A energia do microondas é transmitida através das paredes e os ácidos absorvem esta energia e aquecem muito rapidamente. O fator limitante das digestões em microondas fechado está na pequena quantidade de amostra que pode ser digerida (KIRA, 2002).

A quantificação dos minerais é normalmente feita a partir da Espectofotômetro de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplada (ICP-OES), onde o plasma é usado como fonte de excitação. Esta técnica tem sido muito utilizada na determinação de elementos traço em laticínios devido ao baixo limite de detecção, por possuir uma ampla faixa linear de trabalho e a possibilidade de realizar determinações simultâneas de vários elementos (KIRA e MAIHARA, 2007).

O plasma pode ser definido como um gás parcialmente ionizado formado eletromagneticamente por indução de rádio-freqüência acoplado ao gás argônio. O plasma é formado por um fluxo tangencial de argônio fluindo entre dois tubos de quartzo. A bobina aplica a energia de rádio-freqüência e então um campo magnético oscilante é formado. Quando argônio é submetido a uma descarga elétrica, o plasma é formado e assim produz elétrons e íons. Dentro do campo magnético induzido, as partículas carregadas (elétrons e íons) são forçadas a fluir em um caminho anular fechado. Ocorre o aquecimento por atrito, provocando uma ionização adicional, no momento em que encontra-se resistência ao fluxo. A amostra é injetada como um aerosol através do centro do plasma. O argônio serve para transportar a amostra (KIRA, 2002).

Os comprimentos de onda emitidos são específicos para os elementos que estão presentes na amostra. A escolha do comprimento de onda para os elementos

estudados é efetuada por comparação do espectro de emissão de um padrão multi-elementar contendo os minerais de interesse e o da amostra digerida.

Na Figura 2 é apresentado o equipamento de ICP-OES.

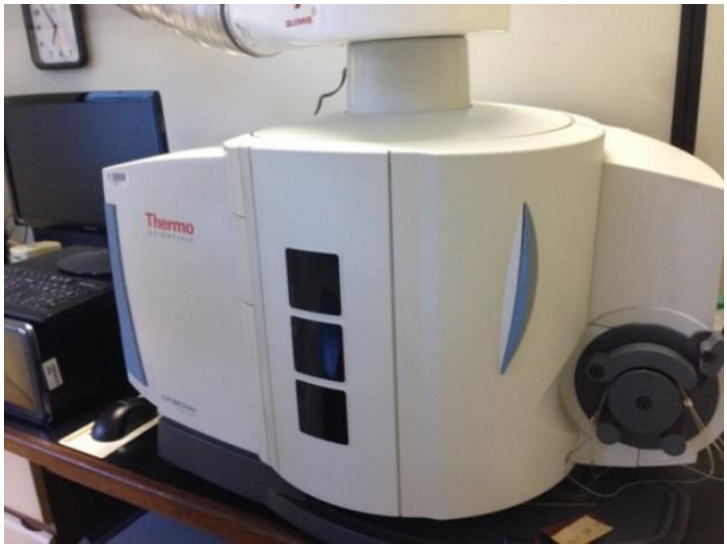


Figura 2 - Equipamento de ICP-OES

No Quadro 6Quadro 6 são apresentados resumos de técnicas analíticas utilizadas em alguns estudos encontrados na literatura.

Quadro 6 - Técnicas analíticas segundo diferentes autores

Referência	Matriz	Técnica Analítica	Preparo da Amostra
Guler (2006)	Leite de cabra e Iogurte	ICP-OES[1] - Varian Vista-MPX2	Digestão em HNO_3 e H_2O_2
Kira e Maihara (2007)	Produtos lácteos	ICP-OES[1] - Optima 3000DV[2]	Digestão em HCl e H_2O
Gonçalves *et al.* (2008)	Leite integral bovino	FAAS[1] - GBC AA 932[2]	Digestão em $Mg(NO_3)_2$ e HCl
Navarro-Alarcón *et al*. (2011)	Leite de cabra e bovino fermentados	HGAAS e FAAS[2]	Digestão em HNO_3 e V_2O_5

Legenda: [1] Equipamento, [2] Modelo. ICP-OES - Espectrofotômetro de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplada; FAAS - Espectroscopia de absorção atômica de chama; HGAAS - Espectroscopia de absorção atômica por geração de hidretos.

O estudo de Guler (2006) demonstrou que o leite de cabra pode contribuir com porções consideráveis de minerais na dieta. Obtendo como resultados: Ca>P>Mg>Na>K>S entre os minerais majoritários e entre os minerais minoritários, B>Si>Se>Zn>Fe>Al>Ni>Sr>Ba>Mo>Co>Mn>Cd>Cu>Ag>Pb em leite cru de cabra.

No trabalho de Kira e Maihara (2007) observou-se que a técnica de ICP-OES com digestão úmida foi realizada determinando o teor de Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn em produtos lácteos (achocolatado lácteo, iogurte e *Petit Suisse*).

Gonçalves *et al*. (2008) estudou os minerais Pb, Cd, Zn, Cu e Fe em leites de diferentes regiões do Brasil e observou que as regiões Centro, Noroeste e Sul são as que possuem leite com a maior concentração de Zn, Cu e Fe, sendo 4,62; 0,59 e 1,13 mg L^{-1} respectivamente. O estudo concluiu que provavelmente estes resultados devem-se à nutrição das vacas, enriquecida com os minerais avaliados e no manejo dos animais.

Navarro-Alarcón *et al.* (2011) utilizou dois tipos de técnica para a quantificação dos minerais, HGAAS para o teor de Se e FAAS para o teor de Zn, Mg e Ca. Todos os elementos quantificados apresentaram maiores valores no leite de cabra do que no leite bovino, sendo Se 7,81 e 2,82 µg g^{-1}; Zn 3,69 e 2,56 µg g^{-1}; Mg 146 e 105 µg g^{-1} e Ca 1556 e 1252 µg g^{-1} respectivamente. Os probióticos rotulados utilizados na fabricação dos leites não apresentaram influência na concentração dos elementos estudados.

1.5. ÁCIDOS ORGÂNICOS

Os ácidos orgânicos são consideráveis contribuintes na composição do *flavour* (componentes aromáticos) de produtos lácteos e particularmente importantes para as propriedades finais de alimentos processados, principalmente os produtos lácteos fermentados (ARRIZON *et. al.*, 2006, FERNANDEZ-GARCIA e McGREGOR, 1994).

Os ácidos orgânicos são resultantes da hidrólise da gordura do leite (ácidos graxos livres – acético ou butírico), do crescimento bacteriano (lático, acético, pirúvico, propiônico e fórmico) e do catabolismo de carboidratos das bactérias ácido láticas (BAL) (TORMO e IZCO, 2004). O perfil de ácidos orgânicos presentes em produtos lácteos fermentados é um indicador da atividade metabólica das culturas das bactérias adicionadas (ADHIKARI *et al*., 2002).

Os ácidos lático, acético e cítrico são encontrados com maior frequência durante a fermentação do leite. O ácido lático e o acético são produtos da degradação da lactose, portanto, durante a fermentação a concentração destes ácidos normalmente aumenta. O ácido cítrico apresenta maior concentração no leite cru. Durante o armazenamento, é consumido rapidamente pela bactéria, diminuindo assim sua concentração (URBIENĖ e LESKAUSKAITĖ, 2006).

A partir das BAL, ocorre o acúmulo de ácidos orgânicos e a redução do pH e então é gerado um efeito antimicrobiológico, destruindo as bactérias patogênicas por meio da diminuição do pH no momento da fermentação (MARTINS, 2006). A acidez impede o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, melhorando a qualidade higiénica dos produtos lácteos, sendo importante notar que a capacidade de inibir microrganismos indesejáveis não depende apenas das BAL, mas também do tipo de ácidos orgânicos formados (TORMO e IZCO, 2004).

Os ácidos orgânicos atuam em parceria com componentes biológicos (imunoglobulina, lisozima e lactoferrina) do leite prevenindo o crescimento de vários microrganismos. Esta preservação devido à presença dos ácidos orgânicos aumenta a qualidade dos laticínios, especialmente por ampliar a validade deles (URBIENĖ e LESKAUSKAITĖ, 2006).

Atuando não apenas como conservantes naturais, mas também para as características sensoriais do produto, alguns ácidos orgânicos têm sido implicados como possíveis fatores na cura e prevenção de certas doenças, como o ácido láctico que tem sido relacionado com a inibição de certas bactérias patogênicas em iogurte e o ácido orótico que tem sido identificado como um possível fator no leite que poderia ajudar a reduzir a incidência da colesterolemia em humanos (FERNANDEZ-GARCIA e McGREGOR, 1994).

Segundo LIMA *et al.* (2010), a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma das técnicas mais utilizadas na identificação e quantificação dos ácidos orgânicos. A CLAE é uma técnica de separação dos componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. Através de diferentes interações entre os analitos e as fases, ocorre o processo de separação. A detecção depende do tipo de detector acoplado ao cromatógrafo.

As vantagens da utilização da CLAE para a determinação de ácidos orgânicos são: a rapidez de análise, com a separação dos ácidos orgânicos de interesse em cerca de 5 minutos e o processo simples de preparo de amostra (FERNANDEZ-GARCIA e McGREGOR, 1994). A maior desvantagem é o alto custo do equipamento e da manutenção, além da necessidade de operadores especializados na técnica (CECCHI, 2010).

A detecção de ácidos orgânicos pode ser realizada com detector de ultra-violeta, normalmente no comprimento de onda de 220 e 280 nm. Devido à presença da função ácido carboxílico e à solubilidade em fase móvel polar, a quantificação pode ser determinada com controle de pH da fase móvel, utilizando o modo por fase reversa ou troca iônica. Os métodos de fase reversa são desenvolvidos com colunas C18 e métodos de troca iônica, com colunas contendo grupamentos amina.

A detecção também pode ser realizada a partir de Detector de Arranjo de Diodo (DAD), que tem as mesmas características do detector UV/visível, mas com a vantagem adicional de oferecer o espectro UV do componente que está sendo separado na coluna cromatográfica, sendo considerado um detector moderno e completo que torna a identificação dos compostos mais conclusiva (CECCHI, 2010).

Na Figura 3 é apresentado o equipamento CLAE.

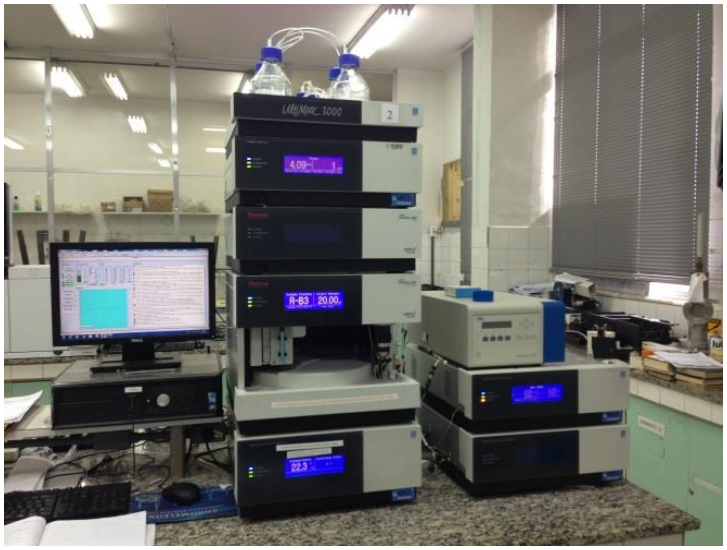


Figura 3 – Equipamento CLAE

O Quadro 7 apresenta um resumo das técnicas analíticas utilizadas em alguns estudos encontrados na literatura.

Quadro 7 - Técnicas analíticas segundo diferentes autores

Referência	Matriz	Técnica Analítica	Preparo da Amostra
Tormo e Izco (2004)	Produtos lácteos	CLAE-UV[1] - Atlantis C18[2]	EFS em ácido fosfórico e acetonitrila
Urbienė e Leskauskaitė (2006)	Leite cru	Espectofotometria-UV[1]	EFS em ácido clorídrico
Bensmira e Jiang (2011)	Bebida láctea de kefir	CLAE-UV[1] - Diamonsil C18[2]	EFS em metanol
Ayyash *et al*. (2012)	Queijo Akawi	CLAE-UV[1] - Aminex HPX-87H[2]	EFS em ácido sulfúrico

Legenda: [1] Equipamento-Detector, [2] Coluna. EFS – Eluição em fase sólida.

No trabalho de Tormo e Izco (2004) foram analisados produtos lácteos como leite, iogurte e queijo e observou-se que o ácido lático foi o de maior concentração tanto em iogurte (14509,8 mg 100 g^{-1} de matéria seca) como no queijo (14601,5 mg 100 g^{-1} de matéria seca). A concentração de ácido cítrico em iogurte fora da validade foi a maior entre as amostras, com aproximadamente 2000 mg 100 g^{-1} de matéria

seca, o ácido acético apresentou maior concentração no queijo com 1006 mg 100 g^{-1} de matéria seca e o ácido fórmico não foi detectado em nenhuma das amostras.

Urbienė e Leskauskaitė (2006) realizaram um estudo sobre a formação de ácidos orgânicos em leite e testaram diferentes culturas iniciais. Eles observaram que a quantidade dos ácidos formados foi influenciada pelo tipo de microrganismo. Foram testados: La-5 (*Lactobacillus acidophilus*), ABT- 2 (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria* e *Streptococcus Thermophylus*) e YC-180 (*Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis, Streptococcus thermophylus e Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*). O leite contendo A La-5 apresentou a maior concentração de ácidos orgânicos, sendo: La-5 (24 mg Kg^{-1}), YC-180 (18 mg Kg^{-1}) e ABT-2 (16 mg Kg^{-1}) de ácido benzoico durante a fermentação do leite. A formação mais intensa de ácido orgânicos durante a fermentação do leite, foi durante a fase Log (de crescimento), entre 3 e 6 horas de fermentação. O conteúdo de ácidos orgânicos formados foi afetado pelas BAL, mas não foi detectada diferença durante o armazenamento do leite já fermentado.

Besmira e Jiang (2011) analisaram bebida láctea de kefir ao longo da fermentação e observaram que houve um acréscimo na concentração de ácido lático de 0 para 1011 µg g^{-1}, o ácido cítrico apresentou diminuição na concentração variando de 2098 a 249 µg g^{-1} e ácido acético apresentou aumento de 2 para 22 µg g^{-1} na fermentação no intervalo de 30 horas.

No estudo em queijo tipo Akawi de Ayyash *et al.* (2012) foram analisadas as concentrações de ácido cítrico (181 a 376 mg 100 g^{-1}), ácido lático (110 a 136 mg 100 g^{-1}) e ácido acético (131 a 282 mg 100g^{-1}) no mesmo período de armazenamento. As concentrações dos ácidos orgânicos aumentaram após 30 dias de armazenamento.

1.6. ÁCIDOS GRAXOS

Os Ácidos Graxos (AG) são constituintes estruturais das membranas celulares e têm funções energéticas e de reservas metabólicas (VANEZUELA e NIETO, 2003). São ácido orgânicos, a maioria de cadeia alquil longa, com mais de 12 carbonos. Podem ser classificados de acordo com o comprimento da cadeia de carbono, pelo número de duplas ligações na cadeia e pela configuração das duplas ligações (SANTOS *et al*., 2013).

O perfil de ácidos graxos é modificado progressivamente durante a fermentação do leite na produção de laticínios, devido ao crescimento microbiano (EKINCI *et al.*, 2008). Segundo Santo *et al.* (2010), as bactérias ácido láticas

promovem a lipólise da gordura do leite, levando à produção de ácido graxos livres. O processo lipolítico provocado pela ação microbiana leva a degradação dos ácidos graxos e formação de compostos voláteis, e como consequência, efeito na característica sensorial do leite (QUEIROGA *et al*. 2007).

O Quadro 8 apresenta os principais ácidos graxos e suas respectivas fórmulas estruturais.

Quadro 8 - Ácidos graxos e suas estruturas condensadas

Ácidos graxos	Estrutura condensada
C4:0 (ácido butanóico)	$CH_3CH_2CH_2COOH$
C6:0 (ácido hexanóico)	$CH_3(CH_2)_4COOH$
C8:0 (ácido octanóico)	$CH_3(CH_2)_6COOH$
C10:0 (ácido decanóico)	$CH_3(CH_2)_8COOH$
C12:0 (ácido dodecanóico)	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$
C14:0 (ácido tetradecanóico)	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$
C16:0 (ácido palmítico)	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$
C18:0 (ácido esteárico)	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$
C18:1n9 (ácido oleico)	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)7COOH$
C18:2n6 (CLA)	$CH_3(CH_2)_3(CH_2CH=CH)_2(CH_2)_7COOH$
C18:3n3 (ALA)	$CH_3(CH_2CH=CH)_3(CH_2)_7COOH$

Para produzir laticínios com qualidade é exigido o controle de vários fatores, como a composição química do leite, o tipo de leite, as condições de processamento e o tipo das culturas iniciais (GULER e GURSOY-BALCI, 2011).

A composição dos ácidos graxos é importante para o processamento do leite na indústria e para a saúde humana, sendo que ácidos graxos saturados (AGS) são os constituintes mais predominantes na composição do leite e sabe-se que AGS implicam no aumento de risco de doenças cardíacas (GULER *et al*, 2001).

Tem sido evidenciada em estudos de população a associação negativa entre a ingestão de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA - *Monounsaturated Fatty Acids)* e ácidos graxos poliinsaturados (PUFA - *Polyunsaturated Fatty Acids)* com a incidência de doenças cardiovasculares, assim como uma associação de efeitos benéficos destes ácidos graxos nas concentrações de LDL e HDL-colesterol (LIMA *et al*., 2000).

Estudos clínicos têm recomendado o aumento dos MUFAs e PUFAs na dieta para os indivíduos em geral, e principalmente aqueles com doença crônica. Acredita-se que os ácidos graxos monoinsaturados não têm influência nos níveis de colesterol e os poliinsaturados reduzem os níveis séricos de LDL – colesterol (LIMA, *et al*., 2000).

Os ácidos graxos podem ser divididos em saturados e insaturados. Entre os ácido graxos saturados (AGS), tem-se os de cadeira curta (entre 2 e 4 átomos de

carbono), cadeia média (entre 8 e 12 átomos de carbono) e cadeia longa (acima de 14 átomos de carbono). Os principais AGS de cadeia longa são: mirístico (C14:0) que tem como principal fonte leite e seus derivados; palmítico (C16:0), encontrado em gordura animal e o óleo de palma e o esteárico (C18:0), presente na gordura do cacau. O ácido palmítico é o mais abundante na alimentação humana (SANTOS *et al*., 2013).

Conforme os estudos de Guler *et al.* (2010), Serafeimidou *et al.* (2012), Florence *et al*., (2012) e Serafeimidou *et al*. (2013), entre os ácidos graxos saturados, o mais abundante em produtos lácteos geralmente é o C16:0 (ácido esteárico).

Os ácidos graxos insaturados são classificados também de acordo com o número de duplas ligações, em monoinsaturados ou poliinsaturado Os ácidos graxos monoinsaturados possuem uma dupla ligação na cadeia carbônica, e o mais comum encontrado na natureza é o oleico (C18:1) e sua principal fonte é o óleo de oliva (SANTOS *et al*., 2013).

Conforme as análises de Guler *et al.* (2010) e Florence *et al*. (2012), entre os ácidos graxos monoinsaturados em laticínios, o mais abundante é normalmente o C18:1 (ácido oleico).

As propriedades físicas e químicas dos ácidos graxos poli-insaturados são determinados a partir do número e a da posição de duplas ligações, sendo que cada família (n-3 e n-6) apresenta diferentes funções fisiológicas, mas atuam em conjunto para regular os processos biológicos (SUAREZ-MAHECHA, *et al*., 2002).

O ácido linolênico e o ácido alfa linolênico são ácidos graxos essenciais e apresentam duplas ligações no terceiro e sexto átomo de carbono respectivamente e não são produzidos pelo organismo humano, por isso só podem ser obtidos a partir da alimentação (SUAREZ-MAHECHA, *et al*., 2002).

De acordo com Florence *et al*. (2012), entre os ácidos graxos poliinsaturados em produtos lácteos, a maior fração encontrada é de ácido linolênico conjugado (cis-9-trans-11 C 18:2, CLA) e ácido alfa linolênico (ALA - *Alpha Linolenic Acid*) (cis-9 cis-12 cis-15 C18:3, ALA).

A gordura do leite é a mais rica fonte de ácido linoleico conjugado (CLA - *Conjugated Linoleic Acid*) e este ácido graxo tem sido considerado um componente saudável da gordura (BERGAMO *et al.*, 2003 *apud* PARODI, 1999).

O grande interesse no CLA é devido ao seu comprovado potencial efeito biológico benéfico à saúde (SERAFEIMIDOU *et al.,* 2012), como exemplos tem-se: inibição da carinogênise e de tumores, redução da gordura corporal, aumento de massa muscular e diminuição de arteriosclerose (BENJAMIN e SPENER, 2009).

O CLA é formado no rúmen, por bactérias anaeróbicas através da biohidrogenação do ácido linoleico e de dessaturação de ácido vacênico (GRIINARI *et*

al., 2000). O ácido linoleico conjugado é uma mistura de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico cis-9, cis-12 octadecadienóico com ligações duplas conjugadas (SERAFEIMIDOU *et al*., 2012).

O teor de CLA em produtos lácteos pode ser modificado a partir do tipo de processamento aplicado ao produto, como a fermentação microbiana através da isomerase e reação de redutase a partir da biohidrogenação, que aumenta a quantidade de CLA em manteiga (ANEJA e MURTHI, 1990) e queijos envelhecidos (LIN *et al*., 1999). Contudo, em iogurte este tipo de processamento não contribui com um aumento significativo do teor do ácido linolêncio (SHANTA *et al*., 1995).

O consumo de ácido alfa linolênico (*Alpha Linolenic Acid* – ALA) promove a redução de lipídios, lipoproteínas e de moléculas de adesão celular (SANTO *et al*., 2010). Suas principais fontes na alimentação são os óleos vegetais (SANTOS, *et al*., 2013).

A técnica normalmente utilizada para analisar os ácidos graxos é a Cromatografia Gasosa de Alta Resolução com detector por Ionização por Chama (CGAR-DIC). O DIC é o detector mais utilizado para analisar compostos orgânicos em níveis traço (KUIPERS e MULLER, 2011).

Isto ocorre, pois o DIC tem excelentes propriedades, como: limite de detecção bem baixo, alta sensibilidade, ampla faixa de medição linear, simples de operar e resposta rápida (KUIPERS e MULLER, 2011 e VISENTAINER, 2012).

Outra metodologia utilizada é a Cromatografia Gasosa com detecção por Espectro de Massas (CG-EM), em que os componentes que eluem da coluna encontram-se na forma gasosa e a ionização é realizada por fontes de fase gasosa, como o impacto de elétrons, ionização química e ionização por campo (HARRIS, 2005; SKOOG, 2009).

A CG é definida como um método físico-químico de separação, em que a amostra é vaporizada e, logo após é injetada no interior de uma coluna, entrando em contato com duas fases: móvel e estacionária. Como fase estacionária, utiliza-se normalmente colunas capilares, pois apresentam alta eficiência, sendo elas as responsáveis pela retenção dos analitos da amostra. A fase móvel não interage com a amostra, tendo como função eluir os componentes (deslocar o soluto pela fase estacionária) normalmente utiliza-se o gás Hélio (HARRIS, 2005, SKOOG, 2009).

Como vantagens a técnica de CG apresenta rapidez, alto poder de separação e resolução, alta sensibilidade (analisa até 10^{-12} g) e como desvantagens, analisar somente componentes voláteis (ou que se tornem voláteis através de reação de derivação) e o processo de preparação da amostra é trabalhosa (CECCHI, 2010).

Na análise com EM, as concentrações dos analitos são obtidas diretamente com as áreas dos picos do espectro. Para resultados mais exatos, pode-se adicionar uma quantidade fixa de padrão interno às soluções das amostras, o que reduz incertezas originadas no preparo e na introdução da amostra, evitando fonte de erros indeterminados (HARRIS, 2005; SKOOG, 2009). O EM é um detector específico, onde diante de tantos sinais tem-se uma identificação segura para cada sinal e leva ao aumento da sensibilidade da análise.

A Figura 4 apresenta o equipamento CG-EM.

Figura 4 – Equipamento CG-EM

No Quadro 9 é apresentado um resumo das técnicas analíticas utilizadas em alguns estudos encontrados na literatura.

Quadro 9- Técnicas analíticas para ácidos graxos segundo diferentes autores

Referência	Matriz	Técnica Analítica	Preparo da Amostra
Santo *et al.* (2010)	Iogurte com polpa de açaí	CG-FID[1] CP-WAX 52CB[2]	ELL - Metilação
Guller e Park (2011)	Iogurte turco	CG-EM[1] DB-FFAP[2]	ELL - Metilação
Florence *et al.* (2012)	Leite orgânico e convencional	CG-FID[1] CP-WAX 52CB[2]	ELL - Metilação
Serafeimidou *et al*. (2013)	Iogurte	CG-FID[1] - DB-23[2]	ELL - Metilação

Legenda: [1] Equipamento-Detector, [2] Coluna. EEL – Eluição líquido líquido

Santo *et al*. (2010) comparou o teor de ácidos graxos durante a fermentação em iogurtes com e sem polpa de açaí e observou que as amostras de iogurte sem

polpa de açaí apresentaram mais ácidos graxos de cadeia longa saturados do que os iogurtes sem a polpa enquanto as amostras com polpa apresentaram maiores concentrações de ácidos graxos moniinsaturados e poliinsataturados, que são desejáveis estarem presentes.

Guler e Park (2011) identificaram e quantificaram ácidos graxos por CG-EM a partir do espectro de massa e foi utilizado o C 7:0 como padrão interno. O ácido graxo de cadeia curta mais abundante foi o ácido etanoico, seguido do hexanóico, octanóico e butanoico e entre os de cadeia média o mais predominante foi o hexadecanóico (esteárico).

Florence *et al*. (2012) avaliou a concentração de ácidos graxos na diferenciação entre leites fermentados orgânicos e convencionais (fermentados probióticos). Os leites fermentados orgânicos apresentaram para o CLA um aumento de 17% no orgânico e 12% no convencional no momento da fermentação. O leite orgânico apresentou valores maiores de CLA e menores de ácidos graxos saturados, o que é desejável numa perspectiva nutricional.

Serafeimidou *et al.* (2012) estudou a composição de ácido graxos e o teor de CLA em iogurte grego. Os iogurtes com menor teor de gordura apresentaram maior quantidade de ácidos graxos saturados e poliinsaturados e os iogurtes com maior teor de gordura são os que contem maior teor de CLA.

1.7. VOLÁTEIS

O aroma em alimentos é identificado de acordo com o teor de compostos voláteis (CORREA *et al.*, 2010). A formação do sabor no processo de fermentação é causada pelo acúmulo de compostos voláteis e não voláteis tais como álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos graxos, ésteres e compostos de enxofre (SMID e KLEEREBEZEM, 2014). Os compostos voláteis são importantes, pois a percepção do *flavor* é um critério que influencia na preferencia do consumidor (ALONSO, 2001).

O sabor típico do iogurte é causado pelo ácido lático e por uma mistura de diversos compostos da carbonila, como acetona, diacetil e acetaldeído, os quais conferem um sabor ácido e refrescante (CHAVES *et al*., 2003). Para produzir o ácido lático e compostos voláteis (cetonas, ácidos, furanos, aldeídos e compostos de enxofre), a lactose do leite é metabolizada pelo *Lactobacillus bulgaricus* e pelo *Streptococcus thermophillus* o que forma no aroma um equilíbrio entre numerosos compostos orgânicos voláteis (IMHOF *et al*., 1995).

Os microrganismos da cultura lática são os principais responsáveis pela produção dos compostos que caracterizam o sabor e o aroma do produto (TAMIME e ROBINSON, 1999). Durante o período de incubação destas culturas iniciais são produzidos os componentes voláteis em leites fermentados (BENSMIRA e JIANG, 2011).

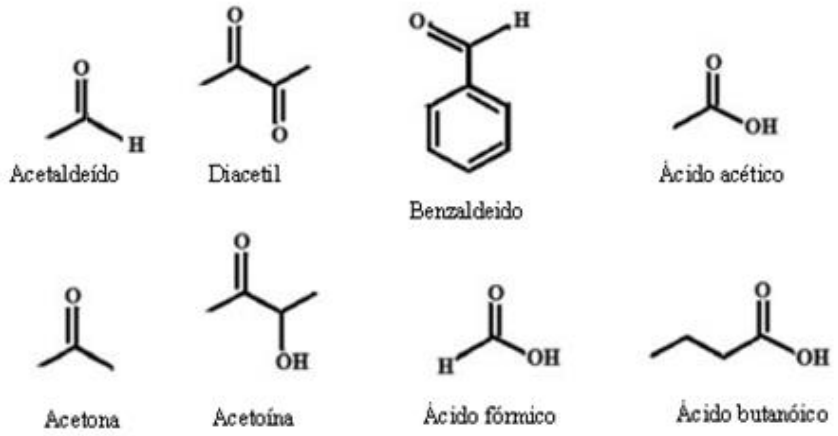
Em bebidas lácteas fermentadas, os componentes mais importantes para o estabelecimento do sabor bem equilibrado do produto são: acetilaldeído, diacetil, acetona, ácido acético e ácido lático, que são produzidos pelas culturas láticas (GULER *et. al*., 2009). Além destes compostos, pode-se encontrar também vários componentes derivados da degradação térmica de lipídios, lactose e proteínas do leite (ZOURAI *et. al*., 1992).

A formação dos componentes do aroma no processo de fermentação depende de dois diferentes processos: a atividade das enzimas na matriz dos alimentos pelos microrganismos da fermentação e por vias metabólicas presentes nas células microbianas metabolicamente ativas (SMID e KLEEREBEZEM, 2014).

As proteínas, os carboidratos e os lipídios funcionam como precursores para a formação do aroma a partir das BAL, que formam diferentes vias metabólicas, além das conversões através das enzimas e por fim são formados os voláteis. Como exemplo, tem-se: aminoácidos, que contribuem como o sabor doce e de umami (gosto de glutamato); os oligopeptídeos com o amargor e os ácidos orgânicos simples com a acidez (SMID e KLEEREBEZEM, 2014).

A qualidade sensorial e o estudo dos voláteis têm grande importância em relação à validade de produtos lácteos. Estes parâmetros vão diminuindo ao longo do tempo, modificando a aceitabilidade do produto final (CONDURSO *et al.*, 2008).

Na Figura 5 são apresentados os principais compostos encontrados no iogurte, segundo Routray e Mishra (2011).



Fonte: ROUTRAY e MISHRA, 2011

Figura 5 - Principais compostos voláteis presentes em iogurte

A Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa (CG-EM) é o método analítico mais utilizado para analisar qualitativamente voláteis em alimentos. Para a extração dos componentes voláteis, utiliza-se a técnica analítica de Micro extração em Fase Sólida (MEFS) (CONDURSO *et al.*, 2008 e VIEGAS e BASSOLI, 2007).

Os compostos voláteis dos iogurtes estão presentes na forma de traços (ηg mL^{-1}), consequentemente a análise por CG entra como uma ferramenta útil para a separação e detecção de analitos (MCNAIR e MILLER, 1997).

O método de MEFS é um procedimento analítico mais simples e mais rápido que extração líquido-líquido e a extração em fase sólida com cartucho, em geral são obtidos extratos mais limpos além de não utilizar solventes para a eluição. Contudo, o analito deve ser volátil e termicamente estável para ser dessorvido da fibra e determinado por CG (QUEIROZ *et al*., 2001).

Neste procedimento é utilizada uma fibra de sílica fundida recoberta com um filme fino de um polímero, por exemplo, polidimetilsiloxano, poliacrilato ou carbowax, ou de um adsorvente sólido, por exemplo, carvão ativo microparticulado (QUEIROZ *et al*., 2001).

A identificação dos voláteis é feita a partir da biblioteca de espectros de massa NIST. Esta biblioteca fornece um banco de dados que sugere a identificação de cada pico cromatográfico. Porém, as informações contidas nela podem estar incompletas ou insuficientes para caracterizar completamente alguns compostos (VIEGAS, 2007).

Desta forma, é importante recorrer ao Índice de Retenção Linear (IRL) dos componentes, o que aumenta a confiabilidade na identificação destes compostos. Este índice relaciona o tempo de retenção do componente em estudo com o tempo de retenção de dois picos (hidrocarbonetos) separados antes e depois do pico do composto de interesse (INCZEDY *et al.*, 1998).

Para calcular o IRL é necessário que seja injetado no CG-MS uma solução-padrão de uma série homóloga de alcanos saturados (C7 – C24, por exemplo), geralmente em hexano, no mesmo método utilizado para a determinação dos voláteis (FACUNDO *et al.*, 2011).

Segue a equação utilizada para encontrar o IRL dos componentes segundo Van den Dool e Kratz (1963):

$$IRL = 100 * \left(\frac{t_c - t_n}{t_{n+1} - t_n} + n \right)$$

Equação 1 - Cálculo do IRL para cada componente

Onde:

- IRL - índice de retenção linear;
- t_c - tempo de retenção do composto de interesse;
- t_n - tempo de retenção do hidrocarboneto anterior;
- t_{n+1} - tempo de retenção do hidrocarboneto posterior;
- n - nº de carbonos do hidrocarboneto anterior.

No Quadro 10 é apresentado um resumo das técnicas analíticas utilizadas em alguns estudos encontrados na literatura.

Quadro 10 - Técnicas analíticas para voláteis segundo diferentes autores

Referência	Matriz	Técnica Analítica	Preparo da Amostra
Condurso *et al.* (2008)	Produtos lácteos	CG-EM[1] - CP WAX 52 CB[2]	MEFS - DVB/CAR /PDMS[3] (50/30 µm)
Güler *et al*. (2009)	Iogurte	CG-EM[1] - HP - INNOWAX[2]	MEFS - PTFE/BYTL[3]
Tanello (2011)	Iogurte probiótico	CG-EM[1] - Rtx-5MS[2]	MEFS - DVB/CAR/PDMS[3] (50/30 µm)
Guller e Park (2011)	Iogurte turco	CG-EM[1] - HP - INNOWAX[2]	MEFS - PTFE/BYTL[3]

Legenda: [1] Equipamento-Detector, [2] Coluna, [3] Fibra. MEFS – Microextração em fase sólida.

No estudo de Condurso *et al*. (2008) foram identificados com IRL e Biblioteca NIST quarenta componentes voláteis nas amostras de iogurte, como ácidos graxos livres, ácidos, aldeídos, álcoois, ésteres, diacetil, acetoína e componentes aromáticos.

No estudo de Guler Seydime *et al*. (2009) foi observada a presença de grande quantidade de acetaldeído, diacetil, acetina, etanol, acetona e 2-butanona nos componentes voláteis. Não foi utilizado o IRL, identificando assim os voláteis apenas por meio da biblioteca de espectro.

Tonello (2011) observou que a composição de voláteis das amostras de iogurtes permaneceu estável durante os 28 dias de armazenamento, e a 2-butanona, a 2,3-butanodiona e a acetona foram os compostos encontrados em maior quantidade no iogurte probiótico. A identificação dos compostos foi realizada com IRL e Biblioteca NIST.

No trabalho de Guler e Park (2011) em iogurtes comerciais da Turquia, o composto predominante foi o acetaldeído, seguido de acetona, acetoína, diacetil e etanol. A identificação foi efetuada somente com informações da Biblioteca NIST.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas dez amostras comerciais de iogurte e dez amostras comerciais de bebida láctea fermentada, desnatadas, parcialmente desnatadas e integrais no sabor morango. As análises de Composição Centesimal foram realizadas na UFRJ (Universidade Federal do Rio de Janeiro) e dos Minerais na UERJ (Universidade Estadual do Rio de Janeiro). As análises de Ácidos Orgânicos, Ácidos Graxos e Voláteis, foram realizadas no IFRJ (Instituto Federal do Rio de Janeiro).

2.1. IOGURTE COMERCIAL

Iogurtes sabor morango de dez marcas distintas foram adquiridos em diferentes mercados locais da cidade do Rio de Janeiro (RJ - Brasil). As amostras pertenciam ao mesmo lote de produção, e suas respectivas vidas de prateleira atendiam ao período de aproximadamente 45 dias. Duas amostras eram do tipo desnatadas (até 0,5% de gordura), cinco parcialmente desnatadas (0,6 a 2,9% de gordura) e três amostras do tipo integrais (3,0 a 5,9%). Oito das marcas estudadas se encontravam acondicionadas em garrafa de PEAD (polietileno de alta densidade) de 900 g. Dois dos produtos eram apresentados em embalagem tipo bandeja com seis potes de 90 g, com peso total de 540 g. Todos os produtos adquiridos estavam devidamente rotulados e estocados em boas condições de refrigeração e apresentavam o Serviço de Inspeção Federal (SIF).

2.2. BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA COMERCIAL

Bebidas lácteas fermentadas sabor morango de dez marcas distintas foram adquiridas em diferentes mercados locais da cidade do Rio de Janeiro (RJ - Brasil). As amostras de cada produto pertenciam ao mesmo lote de produção, e suas respectivas vidas de prateleira atendiam ao período de aproximadamente 35 dias. Quatro marcas estudadas se encontravam acondicionadas em garrafa de PEAD (polietileno de alta densidade) de 900 g. Dois dos produtos eram apresentados em embalagem tipo almofada de PEBD (polietileno de baixa densidade). E quatro marcas em embalagem tipo pote de 540 g com embalagem tipo bandeja contendo seis potes de 90 g, com peso total de 540 g. Todos os produtos adquiridos estavam devidamente rotulados e estocados em boas condições de refrigeração e apresentavam SIF.

2.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

As análises de quantificação de umidade, proteína e lipídios foram realizadas na UFRJ, no laboratório DPNA – LabCBroM, no prédio CCS da Faculdade de Farmácia.

As análises seguiram as metodologias propostas pelo Instituto Adolfo Lutz, 2008.

2.3.1. Umidade

Foram pesados 5 mL de iogurte/bebida láctea. As amostras foram aquecidas por 3 horas em estufa (*Jung*, 0802) a 105 ^{0}C e resfriadas em dessecador até atingir a temperatura ambiente. A amostra foi pesada em balança analítica (*Mettler Toledo*, AI204). Esta operação de aquecimento e resfriamento foi feita até a massa ficar constante.

A porcentagem de teor de umidade é determinada a partir da Equação 2:

$$\% \text{ Teor de Umidade} = (100 \times N) / P$$

Equação 2 – Determinação do teor de umidade

Onde,

N = massa em gramas em resíduo de umidade (perda de massa em gramas);

P = massa em gramas de amostra.

A Figura 6 apresenta o esquema da análise do teor de umidade.

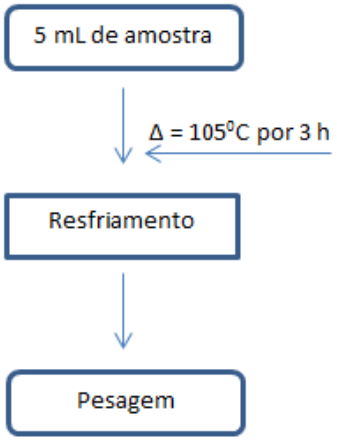


Figura 6 - Esquema da análise de umidade

2.3.2. Proteína

Foi pesado 1 g de amostra (iogurte/bebida láctea) em balança analítica (*Mettler Toledo*, AI204) e foi transferido para o balão de *Kjeldahl*. Foram adicionados 25 mL de acido sulfúrico e 6 g da mistura catalítica (dioxido de titanio anidro, sulfato de cobre anidro e sulfato de potássio anidro, na proporção 0,3:0,3:6). A mistura foi aquecida em bloco aquecedor (*Termal*, TE007 MD) até ficar na cor azul-esverdiada e sem a presença de pontos preta (matéria orgânica). A mistura foi aquecida novamente por 1 hora e logo após resfriada em temperatura ambiente.

O balão foi conectado ao conjunto de destilação. A extremidade do balão foi mergulhada em frasco erlenmeyer de 500 mL, contendo ácido bórico 0,033 M e três gotas do indicador vermelho de metila. A solução de hidróxido de sódio a 30% foi adicionada ao frasco, até obter excesso de base. A mistura foi aquecida até chegar à ebulição e destilada até obter aproximadamente 250 mL do destilado. A solução de hidróxido de amônio foi titulada com ácido sulfúrico 0,05M, usando vermelho de metila como indicador.

A porcentagem de teor de proteínas foi determinada a partir da Equação 3:

$$\% \text{ de proteína} = (N \times F \times V \times 0{,}014) / P \times 100 \times f$$

Equação 3 – Determinação do teor de proteínas

Onde,

N = normalidade

F = fator de correção

V = volume de ácido 0,05 M gasto na titulação;

P = massa em gramas de amostra;

f = fator de conversão (neste caso f=6,38 - produtos lácteos).

A Figura 7 apresenta o esquema da análise do teor de proteínas.

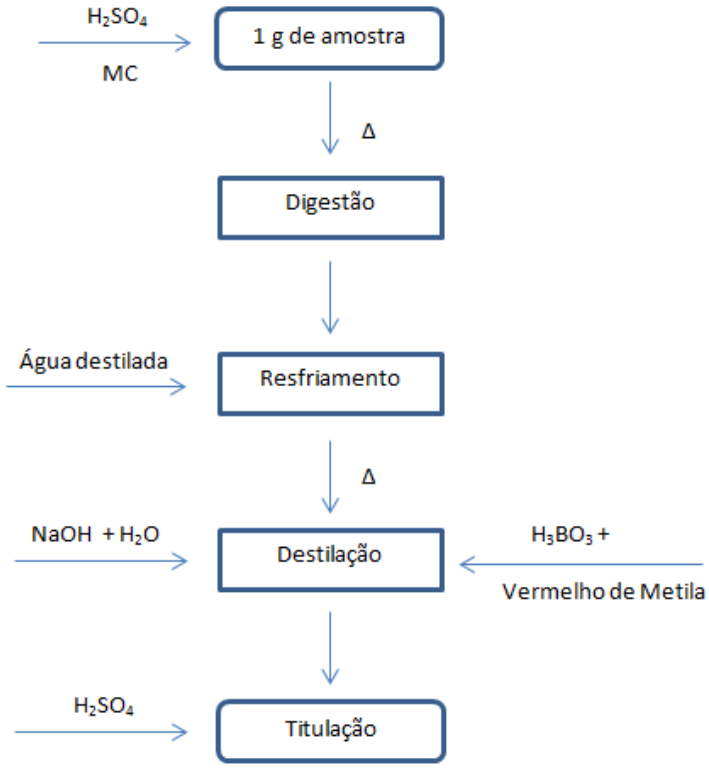


Figura 7 – Esquema da análise de proteínas pelo método *Kjeldahl*

2.3.3. Lipídios

As amostras formam diluídas. Para a análise, 10 mL de ácido sulfúrico e 1 mL de álcool isoamílico foram transferidos para o lactobutirômetro e pesados em balança analítica (*Mettler Toledo*, AI204). 11 mL de amostra foram adicionadas lentamente. A amostra foi centrifugada (Centrífuga – *Helmile*, Z326K) a 1200 rpm por 15 minutos dentro do lactobutirômetro. A camada amarelo-clara (gordura) foi colocada dentro da escala graduada do lactobutirômetro. O valor obtido na escala corresponde diretamente à porcentagem de gordura.

A Figura 8 apresenta o esquema da análise do teor de lipídios totais.

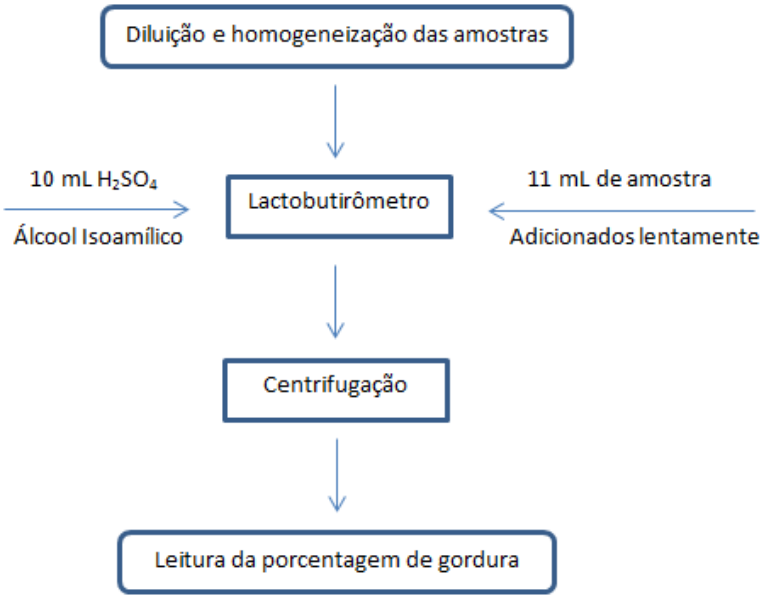


Figura 8 - Esquema da análise de lipídios totais

2.4. ANÁLISE DO TEOR DE MINERAIS

As análises de quantificação dos minerais foram realizadas na UERJ, Prédio Haroldo Lisboa da Cunha, da Engenharia Química.

Primeiramente foi feita a digestão das amostras em um Digestor de Microondas (*Provecto Analítica*, GT 100 Plus). Foram pesados 400 mg de iogurte/bebida láctea, aos quais foram adicionados 3 mL de ácido nítrico PA e 2 mL de peróxido de hidrogênio PA em frasco (tubo de teflon fechado). E então o frasco foi colocado no aparato de segurança, que foi introduzido no digestor de microondas.

O programa de aquecimento do microondas foi feito em três estágios: 1º step com tempo de 5 minutos com potência a 400 W; 2º step também com 5 minutos e potência a 790 W e o 3º step por 2 minutos a potência 0 W.

Os minerais foram quantificados por ICP-OES (*Thermo Scientific*, iCAP 6000 series). Os comprimentos de onda emitidos são específicos para os elementos que estão presentes na amostra. A escolha do comprimento de onda para os elementos estudados é efetuada por comparação do espectro de emissão de um padrão multi-elementar contendo os minerais de interesse e o da amostra digerida. Segue os comprimentos de onda de cada elemento (em nm): Ca - 422,673; Fe - 259,940; K - 766,490; Mg - 285,213; Na - 589,592; Pb - 220,353; Cd - 214,438; Cr - 267,716; Cu - 224,700; Mn - 257,61. Foram realizadas duas curvas de calibração pelo método do padrão externo, a partir de diluições de solução estoque de referência de cada analito.

Para os elementos majoritários (Ca, Fe, K, Mg e Na) a curva variou de 0 a 10 ppm. Já para os elementos minoritários (Cd, Pb, Cr, Cu e Mn) a curva variou de 0 a 1000 ppb. Os limites de detecção e quantificação foram obtidos pelo método baseado em parâmetros da curva de calibração.

Podem-se quantificar diversos minerais diferentes, pois cada um tem um comprimento de onda específico. E para a quantificação, trabalhou-se por comparação com um padrão de referência e observando a intensidade do sinal (luminosidade por concentração).

A Figura 9 apresenta o esquema da análise do teor de minerais.

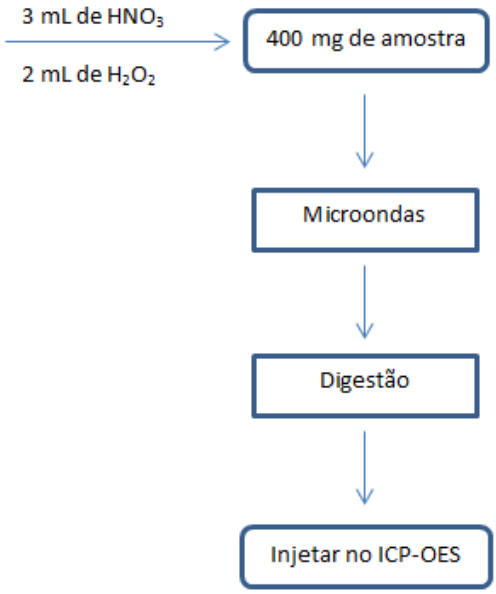


Figura 9 – Esquema da análise de minerais por ICP-OES

2.5. ANÁLISE DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

As análises de identificação e quantificação dos ácidos orgânicos foram realizadas na IFRJ.

Os ácidos orgânicos foram analisados por CLAE-DAD (*Dionex Ultimate 3000*). Para preparo da amostra, foi pesado em balança analítica (*Marte*, AY220) 1 g de amostra de iogurte/bebida láctea e foram adicionados 10 mL de ácido sulfúrico $5{,}0_x10^{-3}$ mol L^{-1}. Em seguida a mistura foi agitada vigorosamente em vortex e centrifugada (Centrífuga *Centribio*, SO-2B) a 3000 rpm por 15 minutos. Foi filtrado 1mL de sobrenadante com filtro de 0,45 µm em cada amostra e por fim injetadas em HPLC.

O método cromatográfico foi feito com fluxo de 0,6 mL min^{-1} e coluna de *Aminex HPX 87H* (300 × 7,8 mm; Bio-Rad Laboratories Inc., Richmond, CA), sistema cromatográfico UHPLC - Dionex com amostrador automático, bomba quaternária. A fase móvel isocrática foi de ácido sulfúrico 0,01 mol L^{-1} com forno da coluna a 30ºC e o detector UV-Vis – 220 nm. As análises foram feitas em triplicata.

A curva de calibração dos ácidos cítrico, lático, fórmico e acético foi construída em matriz nos níveis 0,1; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2 até 1,5 mg mL^{-1}.

A Figura 10 apresenta o esquema da análise de ácidos orgânicos.

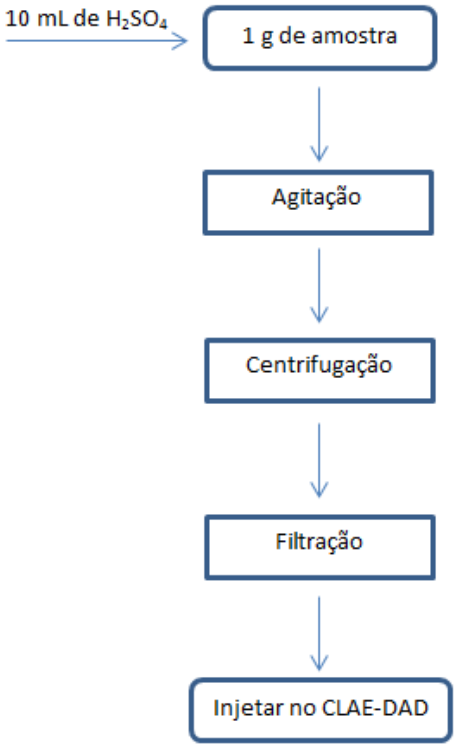


Figura 10 - Esquema da análise de ácidos orgânicos por CLAE-DAD

2.6. ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS

As análises de identificação e quantificação dos ácidos graxos foram realizadas na IFRJ.

Para a extração lipídica, 5 mL de iogurte/bebida láctea foram pesados em balança analítica (*Marte*, AY220) e adicionados a 4 mL de metanol, 2 mL de clorofórmio e uma ponta de espátula de BHT, para assim separar as fases em funil de separação. Logo após a mistura foi agitada fortemente por 3 minutos. Depois desta etapa, formam adicionados mais 2 mL de clorofórmio e 2 mL de água destilada e

agitar por mais 20 segundos. Então foi realizada centrifugação (Centrífuga *Centribio*, SO-2B) por 15 minutos a 3000 rpm. Após a centrifugação, foi observada uma separação de três fases – solventes no fundo, uma pequena camada central e na parte superior, sedimentos sólidos. Esta camada superior foi retirada e utilizou-se 4mL da camada inferior, que foi para o evaporador.

Para a metilação ácida, foram adicionados 6 mL de HCl 10% em metanol e a mistura foi colocada em banho maria de água a 60 ºC por 20 minutos. Então deixar em banho de gelo por 5 minutos e logo após adicionar 1mL de água e 1mL de hexano e agitar por 1 minuto. Formaram-se duas fases, onde a camada superior foi retirada.

A análise de identificação e quantificação dos ácidos graxos foi feita a partir do CG-EM (*Agilient Technologies*, 7890A), tendo as seguintes condições cromatográficas: temperatura do injetor – 280 ºC; forno da coluna – 140 ºC por 2 minutos; rampa de temperatura - 3ºC / minuto até 210ºC; coluna - Carbowax / BRT (30m x 0,32mm, 0,25 µm tamanho da partícula e detector – EM (espectro de massas).

A composição das amostras foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os de padrões e conteúdo relativo de cada FAME (*Fatty acid methyl esters*) foi calculada a partir da área de cada pico. Todas as análises foram feitas em duplicata.

Foram feitas curvas de calibração dos seguintes ácidos graxos: FAME C8 – C24, Trans-Vacênico, Cis-Vacênico, DHA, EPA, Ácido Palmítico, CLA, ALA, Ácido Linolênico, com o total de 22 analitos. Por fim 1 µL desta camada superior foram injetados no CG.

A Figura 11 apresenta o esquema da análise de ácidos graxos.

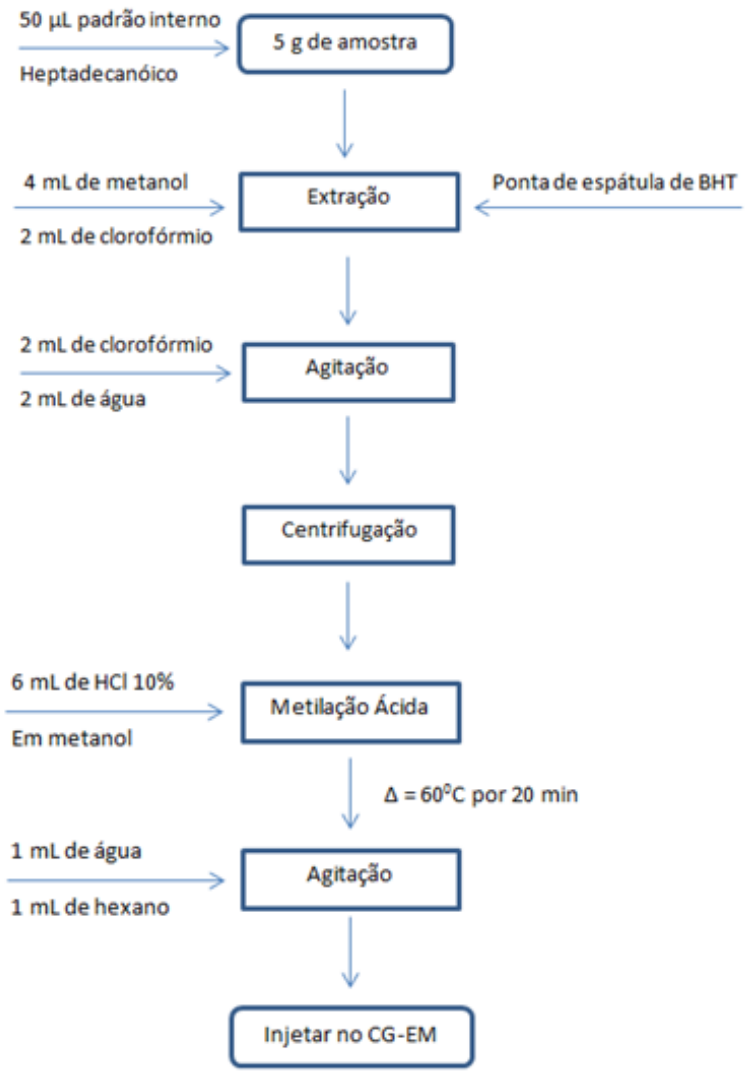


Figura 11 - Esquema da análise de ácidos graxos por CG-EM

2.7. ANÁLISE DE VOLÁTEIS

A análise de identificação dos voláteis foi realizada na IFRJ.

Os compostos voláteis foram analisados por MEFS-CG-EM. A MEFS foi realizada com o injetor automático CTC *CombiPal*, um amostrador automático tipo XYZ com compartimento promovendo o controle da temperatura e agitação para ativação da fibra e extração no *headspace.*

Cerca de 3 g de iogurte/bebida láctea foram transferidos para frascos de headspace de 20 mL que já continham 6 mL de solução saturada de NaOH (cerca de 3,0 g). Os frascos foram tampados com septo de silicone e lacrados com tampa rosca de alumínio. Todas as extrações foram realizadas utilizando uma fibra com 50/30µm de espessura com Divinilbenzeno / Carboxen / Polidimethilsiloxano (DVB/CAR/PDMS)

(*Supelco*, Bellefonte, PA, EUA). Após o tempo de equilíbrio de 20 minutos à 40 ± 1,0ºC com agitação de 750 rpm, o septo que recobre o frasco de *headspace* foi perfurado com a fibra retraída na agulha e então a fibra foi exposta à amostra por 30 minutos extraindo os voláteis do *headspace* por 30 minutos, nas mesmas condições.

As analises foram realizadas com coluna CP-Wax 52 CB 60m, 0,25mm, 0,25 µm, gás de arraste Hélio com fluxo de 1 mL min-1 em cromatógrafo gasoso (*Agilent*, 7890), injetor *split/splitless* com liner apropriado para análises de MEFS e um detector de espectrômetria de massas (*Agilent,* 5975) no modo scan.

A temperatura do injetor foi mantida a 240 ^{o}C. A programação de temperatura do forno foi: 45 ^{o}C por 5 min →10 ºC min^{-1} →80 ºC → 2 ºC min^{-1}→ 240 ºC . O tempo total de análise foi de 88,5 min. A linha de transferência para o EM foi mantida a 240 ^{o}C. Todas as amostras foram injetadas em duplicata. Os componentes foram identificados de acordo com a biblioteca NIST e com a comparação do índice de retenção linear.

A Figura 12 apresenta o esquema da análise dos compostos voláteis.

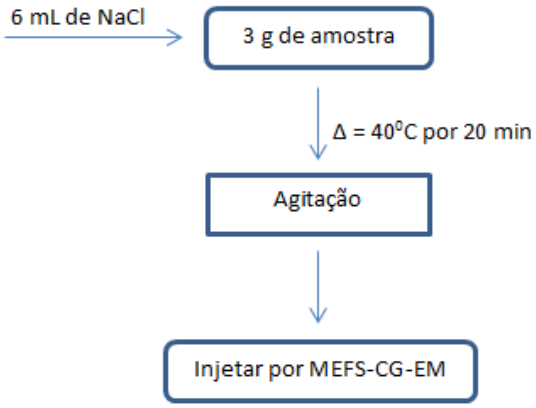


Figura 12 – Esquema da análise dos voláteis por MEFS-CG-EM

2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância para verificar as diferenças entre a aceitabilidade das amostras no programa Microsoft EXCEL 2010.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são abordados os resultados obtidos em cada análise, bem como suas respectivas discussões.

3.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

O teor de umidade nas amostras de iogurte variou entre 77,70 ± 0,03 a 89,37 ± 1,10% e nas bebidas lácteas fermentadas a variação foi de 78,51 ± 0,05 e 90,39 ± 0,06%. Na Tabela 11 do Anexo I, são apresentados os teores de umidade de cada amostra realizada em triplicata.

Na Tabela 2, pode-se observar que a média do teor de umidade nas dez amostras de iogurte foi de 82,12 ± 0,21 % e nas bebidas lácteas, uma média de 83,08 ± 0,06 %. Castro (2012) avaliou amostras comerciais de bebidas lácteas fermentadas e observou um valor médio de 80,80 g 100 g^{-1} de umidade. Segundo Cecchi (2003), em produtos lácteos fluidos a umidade costuma variar entre 87,00 e 91,00%. O que demonstra que as amostras analisadas encontram-se abaixo desta variação, assim como o estudo citado da literatura. Mas nas legislações vigentes das matrizes estudadas não há referencia de valor para umidade.

Quanto à análise de variância, não houve diferença estatisticamente significativa, com $p>0,05$.

O teor de proteína nos iogurtes apresentou variação de 2,84 ± 0,35 até 5,95 ± 0,37% e as amostras de bebidas lácteas fermentadas, variaram entre 1,80 ± 0,15 a 3,81 ± 0,19%. Na Tabela 12 do Anexo I, são apresentados os teores de proteína das amostras avaliadas, que foi realizada em triplicata.

Na Tabela 2, podem-se observar os valores médios dos teores de proteína das amostras analisadas. Em iogurte, o teor de proteína deve ser de no mínimo 2,9 g 100 mL^{-1}, segundo a IN 46/2007, e a média das amostras encontrou-se a cima do limite mínimo exigido – 4,87 ± 0,42 g 100 mL^{-1}. Miguel *et al*. (2010) analisou iogurte lácteo tradicional brasileiro e encontrou 9,13 g 100 g^{-1} de proteínas, teor a cima do observado neste trabalho. Em bebidas lácteas fermentadas, a legislação (IN 16/2005) exige mínimo de 1,7 g 100 mL^{-1}, e neste trabalho, o valor médio foi de 2,72 ± 0,13 g 100 mL^{-1}, estando assim a cima do exigido.. E Castro (2012), analisou amostras de bebidas lácteas fermentadas comerciais e observou valor de 1,91 g 100 g^{-1} de proteínas, sendo um teor abaixo de observado neste estudo.

A análise estatística indicou diferença significativa entre as amostras de iogurte e de bebida láctea fermentada na análise de proteínas, com $p<0,05$, sendo $p=0,0001$. Esta variação pode ser atribuída ao limite de cada legislação, onde o teor de proteínas em iogurte deve ser maior (2,90%) do que em bebidas lácteas (1,7%).

O teor de lipídios nos iogurtes encontrou-se entre 0,00 ± 0,00 e 3,65 ± 0,07%. Sendo que três amostras eram desnatadas (até 0,5% de gordura) e apresentaram teores entre 0,00 e 0,45%, cinco amostras parcialmente desnatados (0,6 a 2,9%) e apresentaram valores entre 1,10 e 2,60% e duas amostras integrais (3,0 a 5,9%) com 3,45 e 3,65% de lipídios totais. Nas bebidas lácteas fermentadas, a variação foi de 0,30 ± 0,00 até 3,00 ± 0,00% e apenas duas das amostras apresentaram valor acima da legislação exigida, de 2,0%. Na Tabela 13 do Anexo I, são apresentados os teores de lipídios das amostras analisadas, realizadas em duplicata.

Miguel *et al*. (2010) analisou iogurte brasileiro e encontrou um teor de 0,70 g 100 g^{-1} de lipídios, estando dentro da legislação, já que as amostras apresentavam-se como parcialmente desnatadas. Castro (2012) analisou amostras de bebidas lácteas fermentadas comerciais e observou como resultado médio de lipídios 1,49 g 100 g^{-1}, apresentando-se também abaixo da legislação vigente de bebidas lácteas.

Os teores de lipídios nas amostras de iogurtes respeitaram as faixas de porcentagem exigidas pela legislação IN 46/2007, já o teor de lipídios nas amostras de bebida láctea fermentada, apresentou-se abaixo do que diz a IN 16/2005 (2,00 g 100 mL^{-1}) com valor médio de 1,32 ± 0,06 g 100 mL^{-1}.

Não foi apresentada diferença estatisticamente significativa, entre as amostras, com $p>0,05$, mesmo com legislações diferentes.

Tabela 2 - Médias dos teores de umidade, proteína e lipídeos em iogurte e bebidas lácteas e seus respectivos teores segundo a legislação

Composição centesimal	Iogurte	IN 46/2007	Bebida láctea	IN 16/2005
Umidade (%m m^{-1})	82,12 ± 0,21	NE	83,08 ± 0,06	NE
Proteína (%m m^{-1})	4,87 ± 0,42	mín. 2,9	2,72 ± 0,13	mín. 1,7
Lipídio (% g 100 mL^{-1})	I - 3,55 ± 0,14	I - 3,0 a 5,9	1,32 ± 0,06	mín. 2,0
	PD - 2,04 ± 0,69	PD - 0,6 a 2,9		
	D - 0,23 ± 0,23	D - máximo 0,5		

NE – não existe na legislação, I – Integral, PD – Parcialmente Desnatado, D - Desnatado

O teor de umidade apresentou-se próximo nas amostras de iogurte e bebida láctea fermentada e não há legislação vigente. O teor de proteína tanto nas amostras de iogurte quanto nas de bebida láctea fermentada se mostraram a cima do valor

exigido em suas respectivas legislações, com 67,93% e 58,82% acima do exigido. O teor de lipídios nos iogurtes encontrou-se dentro das faixas (desnatado, semi desnatado e integral) conforme diz a legislação, já as bebidas lácteas fermentadas apresentaram valor médio abaixo em 34,00% do que exigido na legislação.

3.2. MINERAIS

Foram analisados os minerais majoritários: Cálcio (Ca), Ferro (Fe), Potássio (K), Magnésio (Mg) e Sódio (Na) e os minerais minoritários: Cádmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Manganês (Mn) Chumbo (Pb).

Na Tabela 3 são apresentadas as médias das análises dos minerais majoritários que foi realizada em duplicata e seus respectivos desvios padrões. Nas Tabela 14, 15, 16, 17 e 18 no Anexo II são apresentados os teores dos minerais majoritários em todas as dez amostras analisadas de cada matriz.

Tabela 3 – Teor de minerais majoritários nas amostras analisadas

Minerais majoritários	Iogurte	Bebida láctea
Cálcio (mg g^{-1})	1,36 ± 0,36	1,07 ± 0,36
Ferro (mg g^{-1})	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Potássio (mg g^{-1})	1,60 ± 0,29	1,41 ± 0,21
Magnésio (mg g^{-1})	0,16 ± 0,04	0,11 ± 0,01
Sódio (mg g^{-1})	0,74 ± 0,15	0,68 ± 0,09

O teor de cálcio variou entre 0,78 e 2,11 mg g^{-1} nas amostras de iogurte e nas bebidas lácteas fermentadas a variação foi de 0,81 e 2,04 mg g^{-1}.

A média do teor de cálcio em iogurte (1,36 mg g^{-1}) e nas bebidas lácteas fermentadas (1,07 mg g^{-1}) se mostram próximos aos valores encontrados por Guler (2006), que determinou a concentração deste mineral em leite cru (1,34 mg g^{-1}) e em iogurte (1,45 mg g^{-1}); por Kira e Maihara (2007) com concentração de 0,93 mg g^{-1} em iogurte e Navarro-Alarcón *et al.* (2011) que quantificou o teor de cálcio em iogurte com leite de cabra e de vaca obtendo o mesmo resultado em ambas as matrizes de aproximadamente 1,94 mg g^{-1}.

Quanto à análise de variância entre as amostras de iogurte e bebida láctea, não houve diferença estatisticamente significativa, com $p>0,05$.

A concentração de ferro tanto nas amostras de iogurte quanto nas de bebida láctea fermentada, encontrou-se entre 0,003 e 0,010 mg g^{-1} e as médias obtidas nas

duas matrizes também formam iguais. Guler (2006), determinou a concentração de Fe em leite cru de aproximadamente 0,04 mg g^{-1} e em iogurte de 0,06 mg g^{-1}, demonstrando também baixo teor deste mineral. Kira e Maihara (2007) encontraram o valor aproximado de 0,02 mg g^{-1} em iogurte e Gonçalves *et al*. (2008) obteve concentração média de 0,96 mg L^{-1} Fe em leite integral bovino. Os valores encontraram-se abaixo aos requerimentos dietéticos para indivíduos em crescimento para manutenção da saúde.

Quanto à análise de variância, não houve diferença estatisticamente significativa, com $p>0,05$ no teor de Fe entre as amostras.

O teor de potássio variou entre 0,89 a 1,92 mg g^{-1} nas amostras de iogurte e de 1,16 a 1,78 mg g^{-1} nas bebidas lácteas fermentadas. Kira (2002) obteve concentração de 1,36 mg g^{-1} de K analisando iogurte enquanto Guler (2006) encontrou 0,56 mg g^{-1} em iogurte e 0,41 mg g^{-1} em leite cru deste mineral, valores abaixo dos resultados de Kira (2002) e do presente trabalho. Guler (2006) observou a partir de seus resultados que o K diminuiu sua concentração durante o processo de fabricação em iogurte, assim uma considerável quantidade deste mineral pode ser perdida durante este processo.

A análise estatística indicou que não houve diferença estatisticamente significativa, com $p>0,05$ no teor de K entre as amostras.

Não há no Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais da RDC nº 269, um valor estabelecido para o potássio, mas há indicação de ingestão diária de potássio segundo o *Institute of Medicine* (2004), onde para adultos a ingestão deve ser de 4,7 g; para crianças varia de 0,40 g (0-6 meses) até 3,80 g (4-8 anos); para mulheres gestantes 4,7 g e lactantes 5,1 g.

O teor de magnésio variou entre 0,09 a 0,21 mg g^{-1} em iogurte e 0,09 a 0,13 mg g^{-1} nas bebidas lácteas fermentadas. Kira (2002) analisou iogurte e obteve como concentração média de Mg, 0,08 mg g^{-1}; Guler (2006) encontrou concentração aproximadamente de 0,05 mg g^{-1} em suas amostras de iogurte e também de leite cru bovino e Navarro-Alarcón *et al.* (2011) quantificou o teor de Mg em iogurte com leite de cabra e de vaca obtendo como resultados 0,15 mg g^{-1} e 0,18 mg g^{-1} respectivamente.

A análise estatística indicou que houve diferença estatisticamente significativa, com $p<0,05$ ($p=0,004$) no teor de Mg entre as amostras de iogurte e bebida láctea.

O teor de sódio variou nas amostras de iogurte entre 0,46 a 0,90 mg g^{-1} e nas de bebida láctea fermentada a variação apresentou-se entre 0,55 até 0,81 mg g^{-1}. Kira e Maihara (2007) determinaram o teor de sódio em amostras de iogurte e observaram um teor de 0,35 mg g^{-1} e Guler (2006) obteve 0,52 mg g^{-1} em amostras de iogurte e

0,43 mg g^{-1} em leite cru deste mineral. E Ressinetti Pedro *et al.* (2001) obteve como média de teor de sódio 0,51 mg g^{-1} em amostras comerciais de iogurte.

Quanto à análise de variância, não houve diferença estatisticamente significativa, com p>0,05 no teor de Na entre as amostras.

Na RDC nº 269 não há um valor estabelecido para o consumo diário de sódio, mas segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) a recomendação de ingestão diária para adultos deve ser no máximo 5 g de sal de cozinha – NaCl – cloreto de sódio (equivalentes a 2000 mg de sódio) até 2020. Para crianças e adolescentes, os limites máximos de consumo de sódio e sal são ainda menores. Há um percentual de redução anual no teor máximo de sódio em alguns alimentos processados, mas para os laticínios ainda não há um percentual estabelecido (NILSON *et al.*, 2012).

Na Tabela 4 tem-se a RDA segundo cada estágio da vida e a Tabela 5 é apresentada a porcentagem ingerida de cada mineral majoritário para os resultados deste trabalho, conforme os valores da IRD em diferentes estágios da vida.

Tabela 4 – IRD dos minerais segundo o estágio da vida

	Ca	Fe	K	Mg	Na
Estágio da vida	RDA (mg)	RDA (mg)	RDA (mg)	RDA (mg)	RDA (mg)
Bebê	210	0,27	400	30	120
Criança	800	10	3800	130	1200
Homem	1000	8	4700	420	1500
Mulher	1000	18	4700	320	1500
Gestantes	1000	27	4700	350	1500
Lactantes	1000	9	5100	310	1500

Bebê (0-6 meses); Criança (4-8 anos); Homem (31-51 anos); Mulher (31-51 anos); Gestante (19-30 anos); Lactante (19-30 anos)

Tabela 5 – Porcentagem ingerida de minerais em 100g de iogurte e bebida láctea

	Ca		Fe		K		Mg		Na	
Estágio da Vida	I (%)	BL (%)	I (%)	BL (%)	I (%)	BL (%)	I (%)	BL (%)	I (%)	BL (%)
Bebê	0,65	0,51	3,70	3,70	0,40	0,35	0,53	0,37	0,62	0,57
Criança	0,17	0,13	0,10	0,10	0,04	0,04	0,12	0,08	0,06	0,06
Homem	0,14	0,11	0,13	0,13	0,03	0,03	0,07	0,05	0,05	0,05
Mulher	0,14	0,11	0,06	0,06	0,03	0,03	0,05	0,03	0,05	0,05
Gestantes	0,14	0,11	0,04	0,04	0,03	0,03	0,05	0,03	0,05	0,05
Lactantes	0,14	0,11	0,11	0,11	0,03	0,03	0,05	0,04	0,05	0,05

I – Iogurte, BL – Bebida Láctea; Bebê (0-6 meses); Criança (4-8 anos); Homem (31-51 anos); Mulher (31-51 anos); Gestante (19-30 anos); Lactante (19-30 anos)

De acordo com os resultados, percebe-se que a maior porcentagem de ingestão em bebês (0-6 meses) nas amostras de iogurte seguiu a sequencia de Fe

(3,70%) > Ca (0,65%) > Na (0,62%) > Mg (0,53%) > K (0,40%). Nas de bebida láctea fermentada, Fe (3,70%) > Na (0,57%) > Ca (0,51%) > Mg (0,37%) > K (0,35%).

Para crianças (4-8 anos), a maior ingestão por iogurte foi Ca (0,17%) > Mg (0,12%) > Fe (0,10%) > Na (0,06%) > K (0,04) e nas amostras de bebida láctea fermentada Ca (0,13%) > Fe (0,10%) > Mg (0,08%) > Na (0,06%) > K (0,04%).

Para homens e mulheres entre 31 e 51 anos, seguiu a mesma ordem de ingestão varando apenas a quantidade ingerida. Para homens, nas amostras de iogurte, tem-se Ca (0,14%) > Fe (0,13%) > Mg (0,07%) > Na (0,05%) > K (0,03) e nas de bebida láctea fermentada Fe (0,13%) > Ca (0,11%) > Na (0,05%) > K e Mg (0,03%). Para as mulheres, nas amostras de iogurte, tem-se Ca (0,14%) > Fe (0,13%) > Mg e Na (0,05%) > K (0,03%) e nas de bebida láctea fermentada Ca (0,11%) > Fe (0,06%) > Na (0,05%) > K e Mg (0,03%).

Em gestantes, a ingestão de iogurte seguiu a sequência: Ca (0,14%) > Mg e Na (0,05%) > Fe (0,04%) > K (0,03%) e as bebidas lácteas fermentadas Ca (0,11%) > Na (0,05%) > Fe (0,04%) > K e Mg (0,03%).

Em lactantes, a maior ingestão por iogurte foi de Ca (0,14%) > Fe (0,11%) > Mg e Na (0,05%) > K (0,03%) e nas bebidas lácteas fermentadas, Ca e Fe (0,11%) > Na (0,05) > Mg (0,04%) > K (0,03%).

Observando-se que além da faixa etária de bebês, onde a maior ingestão seria de ferro, todas as outras idades, a maior ingestão seria de cálcio tanto em iogurte quanto em bebida láctea mostrando ser uma boa fonte deste mineral. Os outros minerais variaram de acordo com a idade, sendo que o iogurte apresentou maiores concentrações na maioria deles.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados dos minerais minoritários.

Tabela 6 - Teor de minerais minoritários nas amostras analisadas

Minerais	Iogurte	Bebida láctea
Cádmio (µg L^{-1})	< LOD	< LOD
Chumbo (µg L^{-1})	< LOD	< LOD
Cromo (µg L^{-1})	< LOD	< LOD
Cobre (µg L^{-1})	< LOD	< LOD
Manganês (µg L^{-1})	< LOD	< LOD

LOD - Valores de Limite de Detecção

LOD_{Cd} = 21,4 µg L^{-1}; LOD_{Cr} = 94,1 µg L^{-1}; LOD_{Cu} = 22,4 µg L^{-1}; LOD_{Mn} = 96,3 µg L^{-1}; LOD_{Pb} = 28,8 µg L^{-1}.

Os teores de todos os minerais minoritários encontraram-se abaixo do limite detectável.

O cádmio é um metal tóxico que tende a se concentrar e dependendo do teor deste elemento em algumas matrizes de alimentos, pode levar a efeitos tóxicos, tendo o limite máximo de resíduos aceitos pela RDC 42 de 29/08 de 0,05 mg L^{-1}. (CANCELA e YEBRA, 2006, GONÇALVES *et al.*, 2008). Por isso espera-se baixas concentrações de cádmio em alimentos.

Cancela e Yebra (2006) determinaram o teor de cádmio em alguns tipos de laticínios. Entre eles, o iogurte apresentou uma das menores concentrações, com 0,085 µg g^{-1}. E Guler (2006) observou concentração de 0,010 µg g^{-1} em amostras de iogurte e 0,006 µg g^{-1} em leite cru. Ayar *et al*. (2009) identificou um teor de 0,009 µg g^{-1} de Cd em iogurte e 0,017 µg g^{-1} em leite. Todos também abaixo do LOD de 21,4 µg L^{-1} (0,0214 mg L^{-1}) e do limite de 0,05 mg L^{-1}.

O chumbo é considerado um contaminante ambiental (GONÇALVES *et al*, 2008) e tem como limite máximo aceito pela RDC 42 de 29/08 de 0,0200 mg Kg^{-1} e neste estudo ficou abaixo de 28,8 µg L^{-1} (0,0288 mg L^{-1}), desta forma não possível afirmar que o teor de chumbo ficou abaixo de limite exigido.

Guler (2006) observou teores de 0,06 e 0,01 µg g^{-1} de chumbo em amostras de iogurte e leite cru respectivamente. Gonçalves *et al*. (2008) obteve um alto teor de chumbo em leite integral bovino de 238 µg L^{-1}. Ayar *et al*. (2009) identificou um teor de 0,09 µg g^{-1} de Pb em iogurte e 0,10 µg g^{-1} em leite. Resultados semelhantes, estando abaixo do LOD de 28,8 µg L^{-1}, menos o estudo de Gonçalves *et al.* (2008), que obteve teor superior aos aceitos pela ANVISA (BRASIL, 2013).

Kira e Maihara (2007) determinaram o teor de cromo em amostras de iogurte e observaram um resultado de 0,04 µg g^{-1} e Guler (2006) obteve 0,010 µg g^{-1} deste mineral em iogurte e 0,006 µg g^{-1} em leite cru, valores abaixo do limite detectável de 94,1 µg L^{-1}.

Kira e Maihara (2007) observaram uma concentração de 0,05 µg g^{-1} em amostras de iogurte e Guler, 2006 obteve 0,65 µg g^{-1} nas amostras de iogurte e 0,48 µg g^{-1} no leite cru de cobre. Desta forma, estes autores também encontraram valores abaixo do LOD de 22,4 µg L^{-1}.

Kira e Maihara (2007) observaram uma concentração aproximadamente de 0,30 µg g^{-1} em amostras de iogurte e Guler (2006) observou teores de 0,95 e 0,70 µg g^{-1} em amostras de iogurte e leite cru respectivamente. Estes resultados também não atingem o LDO de 96,3 µg L^{-1}.

O potássio foi o mineral que apresentou maior concentração nas amostras de iogurte (1,60 ± 0,29 mg g^{-1}) e nas bebidas lácteas fermentadas (1,41 ± 0,21 mg g^{-1}), seguido do cálcio (1,36 ± 0,36 mg g^{-1} e 1,07 ± 0,36 mg g^{-1}) e sódio (0,74 ± 0,15 mg g^{-1} e 0,68 ± 0,09 mg g^{-1}) e com menores concentrações, o magnésio (0,16 ± 0,04 mg g^{-1} e

0,11 ± 0,01 mg g^{-1}) e o ferro (0,01 ± 0,00 mg g^{-1}). Entre os minoritários, todos os minerais apresentaram abaixo dos valores de limite de detecção nas amostras de iogurtes e nas bebidas lácteas fermentadas.

3.3. ÁCIDOS ORGÂNICOS

Dos ácidos orgânicos analisados, os ácidos cítrico e lático foram encontrados em todas as amostras analisadas. Já o ácido fórmico não foi detectado nas amostras de iogurte e em três de bebida láctea e o acético em quatro amostras de iogurte e duas de bebida láctea.

Na Tabela 7, são apresentadas as concentrações de destes ácidos orgânicos nas amostras de iogurtes e bebidas lácteas fermentadas analisadas. Pode-se observar que as concentrações dos ácidos cítrico e lático, ficaram bem próximas nas amostras de iogurte e nas de bebidas lácteas.

Na Tabela 7 são apresentados os valores de concentração dos ácidos orgânicos quantificados nas amostras em mg mL^{-1} e nas Tabela 19, 20, 21 e 22 do Anexo III, tem-se os valores encontrados dos teores de cada ácido orgânico em todas as amostras avaliadas.

Tabela 7 – Concentrações médias dos ácidos orgânicos nas amostras analisadas

Ácidos Orgânicos	Iogurte	Bebida láctea
Ácido Cítrico (mg mL^{-1})	1,99 ± 0,48	1,75 ± 0,45
Ácido Lático (mg mL^{-1})	0,67 ± 0,19	0,65 ± 0,21
Ácido Fórmico (mg mL^{-1})	-	0,81 ± 0,34
Ácido Acético (mg mL^{-1})	6,63 ± 4,36	2,86 ± 1,26

A concentração de ácido cítrico nos dez iogurtes analisados, variou entre 0,87 e 2,58 mg mL^{-1} e, para as bebidas lácteas, foi de 0,94 até 2,51 mg mL^{-1}. Isto mostra que mesmo sendo produtos diferentes, apresentaram praticamente a mesma variação de concentração. A análise de variância indicou que não houve diferença estatisticamente significativa, com $p>0,05$ no teor de ácido cítrico entre as amostras.

O ácido cítrico foi encontrado no trabalho de Adhikari *et al*. (2001) em iogurte, e sua a concentração diminuiu após 30 dias de estocagem a 4,4 ^{0}C, reduzindo seu teor 7,73 a 6,32 mg mL^{-1} . Este teor encontra-se a cima do observado neste trabalho

A degradação do citrato pelas BAL é muito importante para a formação do aroma em produtos láteos. O ácido cítrico é metabolizado apenas por variantes

especificas de *L. lactis* (como o *L*. *lactis* subsp. *lactis* biovar diacetylactis), então o citrato é convertido em oxaloacetato e em acetato a partir da enzima citrato lise. O oxalacetato é ainda convertido em dióxido de carbono e piruvato pela descarboxilase oxaloacetato e, por fim, o piruvato produz componentes do aroma como diacetil, acetoína e 2-3 butanediol (SMID e KLEEREBEZEM, 2014). Desta forma, ele costuma diminuir sua concentração ao longo da fermentação conforme o estudo de Adhikari *et al*. (2001), mas ainda sim é esperado estar presente em produtos fermentados.

Para o ácido lático, a concentração encontrada nas amostras de iogurtes variou entre 0,40 a 0,90 mg mL^{-1} e nas bebida lácteas fermentadas, a variação foi de 0,34 a 1,00 mg mL^{-1}. Isto demonstra uma variação próxima nas amostras de iogurte e bebida láctea. A análise de estatística indicou que não houve diferença significativa, com $p>0,05$ para o teor de ácido lático entre as amostras.

Fernandez-Garcia e McGregor (1994), que estudou a produção de ácido lático durante a fermentação de iogurte, observou um aumento da concentração, de 0 até 8,76 mg mL^{-1} deste ácido no produto final, pois o ácido lático é um dos produtos finais da fermentação das BAL. A quantificação de ácido lático foi feita também por Adhikari *et al*. (2001) e a concentração variou entre 2,14 a 6,55 mg mL^{-1} após 30 dias armazenado sob refrigeração.

O iogurte é formado a partir de duas bactérias - *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophillus* - e ambas têm o sistema β-galactosidase, onde a lactose é hidrolisada a glucose e galactose. A glucose é metabolizada pela via glicolítica a piruvato, que é então convertido em ácido lático a partir da enzima lactato dehidrogenase. Estas duas bactérias são homofermentativas termófilas, com isto o resultado principal de todo o processo fermentativo é o ácido lático, sendo este ácido um dos maiores metabólitos produzido, mas sua atividade de formação depende das cepas que se associam (YILDIZ, 2010). Desta forma o ácido lático normalmente aumenta sua concentração ao longo da fermentação, sendo esperada sua presença em iogurtes e bebidas lácteas fermentadas.

O ácido fórmico não foi detectado nas dez amostras de iogurte e apenas em três das marcas de bebida láctea fermentada, variando de 0,46 a 1,13 mg mL^{-1}. Desta forma, a análise de variância mostrou-se com diferença estatística significativa, com $p<0,05$ ($p=0,01$). Este resultado pode ser atribuído ao fato de que não houve presença de ácido fórmico entre as amostras de iogurte.

No trabalho de Fernandez-Garcia e McGregor (1994), Guzel-Seydim *et al.* (2000) e Tormo e Izco (2004), também não foi detectado o ácido fórmico em iogurte.

O ácido fórmico, assim como o ácido lático, é formado a partir da hidrólise da lactose pelas BAL, em que no início da fermentação o *Streptococcus thermophillus*

diminui o pH a 5,5 e é então produzido o ácido fórmico e o oxigênio é consumido (PINTO, 2009 e BAGLIO, 2014). Este ácido é produzido principalmente pelo *S. thermophillus,* mas é requerido para o crescimento do *L. bulgaricus,* que é então estimulado a se multiplicar, sendo um dos primeiros fatores de crescimento desta bactéria (YILDIZ, 2010). Courtin e Rul (2003), demonstraram que uma cultura de *S. thermophillus* produziu 4.03 mg L^{-1} de ácido fórmico após 5 h de fermentação quando havia apenas esta cultura, mas ao misturar as culturas (*S. thermophillus* e *L. bulgaricus*) a concentração deste ácido chegou a 0.56 mg L^{-1} de ácido fórmico e isto foi atribuído ao consumido pelo *L. bulgaricus*. Então é possível que a ausência desse ácido nas amostras de iogurte seja devido a este fato. Já nas bebidas lácteas, este ácido foi detectado, pois não foi totalmente consumido como nas amostras de iogurte.

E o ácido acético, foi detectado em quatro das amostras de iogurte, mostrando uma variação entre 2,20 até 10,89 mg mL^{-1}. Nas bebidas lácteas, este ácido foi encontrado em apenas duas das amostras analisadas, tendo as seguintes concentrações: 1,96 e 3,75 mg mL^{-1}. Quanto à análise estatística, não houve diferença significativa, com $p>0,05$.

No estudo de Guzel-Seydim *et al.* (2000), não foi detectado o ácido acético nas amostras de kefir, enquanto Besmira e Jiang (2011) detectaram um aumento deste ácido, indo de 0,002 a 0,022 mg mL^{-1} também em kefir. Assim como no trabalho de Adhikari *et al*. (2001), que observou um aumento de 0 a 0,002 mg mL^{-1} durante o armazenamento de iogurtes por um mês à baixa temperatura.

O ácido acético é proveniente da hidrólise da lactose, a partir do piruvato que é convertido em ácido lático e ácido acético pela ação do *S. thermophillus e* do *L. bulgaricus* ou através de bifdobactérias (bactérias probióticas), que são heterofermentativas e produzem acido lático e ácido acético na proporção de 2:3 (YILDIZ, 2010). Desta forma, o ácido acético pode ser formado por bactérias heterofermentativas facultativas ou obrigatórias, sendo normal sua presença em produtos lácteos (BAGLIO, 2014). Além disso, este ácido costuma aumentar sua concentração, por ser produto final das bactérias. Mas a ausência deste ácido na maioria das amostras pode ser devido a variações nas proporções, tipos de microrganismos e linhagens utilizadas que estão presentes nos iogurtes e bebidas lácteas.

O ácido acético foi o ácido orgânico com maiores concentrações nas amostras de iogurte (6,63 ± 4,36 mg mL^{-1}) e bebida láctea (2,86 ± 1,26 mg mL^{-1}), seguido do ácido cítrico (1,99 ± 0,48 mg mL^{-1} e 1,75 ± 0,45 mg mL^{-1}) e do ácido lático (0,67 ± 0,19 mg mL^{-1} e 0,65 ± 0,21 mg mL^{-1}) e o ácido fórmico que foi identificado apenas nas amostras de bebida láctea fermentada (0,81 ± 0,34 mg mL^{-1}).

3.4. ÁCIDOS GRAXOS

Entre os ácidos graxos identificados nas amostras de iogurte e bebida láctea temos: ácido butanóico, hexanóico, octanóico, decanóico, dodecanóico, tetradecanóico, miristoleico, pentadecanóico, palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, CLA, ALA e docosanóico. Foram considerados ácidos graxos de cadeia curta o C4:0 e C6:0, de cadeia média entre o C8:0 e C12:0 e de cadeia longa de C14:0 a C20:0. Entre os ácidos graxos monoinsaturados, C14:1n9, C15:1n10 e C18:1n9 e ácidos graxos poliinsaturdos, C18:2n6 - CLA e C18:3n3 ALA.

Segue na Tabela 8 as concentrações médias encontradas nas amostras de iogurte e de bebida láctea fermentada. Nas tabelas apresentadas no Anexo IV, pode-se observar os teores dos ácidos graxos avaliados em todas as amostras de iogurte e de bebida láctea fermentada.

Tabela 8 – Concentrações médias dos ácidos graxos nas amostras analisadas

Ácido Graxo	Iogurte (g 100 g^{-1})	Bebida Láctea (g 100 g^{-1})
C4:0 (ácido butanóico)	1,50 ± 0,56	1,93 ± 1,04
C6:0 (ácido hexanóico)	1,34 ± 0,45	1,33 ± 0,40
C8:0 (ácido octanóico)	1,15 ± 0,40	1,34 ± 0,30
C10:0 (ácido decanóico	1,80 ± 0,47	2,03 ± 1,27
C12:0 (ácido dodecanóico)	2,21 ± 1,09	4,34 ± 3,15
C14:0 (ácido tetradecanóico)	6,39 ± 2,72	9,43 ± 5,23
C14:1n9 (ácido miristoleico)	2,44 ± 1,69	3,01 ± 0,00
C15:1n10 (ácido pentadecanóico)	4,01 ± 0,79	5,59 ± 4,00
C16:0 (ácido palmítico)	10,66 ± 6,88	13,38 ± 8,13
C16:1n9 (ácido palmitoleico)	4,84 ± 2,11	3,65 ± 1,95
C18:0 (ácido esteárico)	7,82 ± 3,76	10,64 ± 7,55
C18:1n9 (ácido oleico)	7,71 ± 3,42	7,94 ± 5,35
C18:2n6 (CLA)	2,03 ± 0,50	2,79 ± 1,64
C18:3n3 (ALA)	2,18 ± 1,44	2,22 ± 0,65
C20:0 (ácido docosanóico)	0,00 ± 0,00	0,97 ± 0,00
Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)	2,83 ± 0,11	3,25 ± 0,42
Ácidos graxos de cadeia média (AGCM)	5,16 ± 0,53	7,71 ± 1,57
Ácidos graxos de cadeia longa (AGCL)	48,08 ± 3,15	59,61 ± 4,16
Ácidos graxos saturados	32,86 ± 3,66	45,38 ± 4,79
Ácidos graxos monoinsaturados	19,01 ± 2,21	20,19 ± 2,22
Ácidos graxos poliinsaturados	4,20 ± 0,11	5,01 ± 0,41

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) são formados é a partir da fermentação de fibra dietética pelas bactérias. Devido a sua importância, houve um

aumento dos estudos sobre este tipo de ácido graxo na ultimas décadas (SERAFEIMIDOU *et al*., 2013).

Segundo Florence *et al*. (2012), durante a fermentação há pouca diminuição na concentração dos AGCC após armazenamento de 7 dias em iogurte convencional (6,31 para 5,56%) e no iogurte orgânico (5,51 para 5,29%).

O ácido butanoico é um ácido graxo de cadeia curta e foi identificado em sete das amostras de iogurte, com média de 1,50 ± 0,56 g $100g^{-1}$ e em cinco de bebida láctea com concentração de 1,93 ± 1,04 g $100g^{-1}$. A concentração média de C4:0 se mostrou próxima nas amostras de iogurte e de bebida láctea fermentada, com análise de variância indicando que não houve diferença estatisticamente significativa, com $p>0,05$.

Serafeimidou *et al*. (2013) analisou amostras de iogurte de leite de vaca e observou que houve aumento da concentração do C4:0 do dia 1 ao dia 14, aumentando seu teor de 0,52 para 0,67 g $100g^{-1}$ em armazenamento a 5 ^{0}C. Santo *et al*. (2010) analisou iogurte com adição de polpa de açaí e observou uma concentração de 0,50 g $100g^{-1}$ de C4:0. Guler *et al*. (2010) analisou leite e obteve 0,13% de C4:0. Comparado à literatura, os valores obtidos de C4:0 ficaram acima do esperado para este tipo de ácido graxo, provavelmente por causa do tipo de cultura utilizada.

O ácido hexanóico, também AGCC, foi detectado em sete das amostras de iogurte, com concentração de 1,34 ± 0,45 g $100g^{-1}$ e em cinco de bebida láctea fermentada com concentração média de 1,33 ± 0,40 g $100g^{-1}$. Observando-se então concentração bem próximas de C6:0 nas amostras de iogurte e bebida láctea fermentada, não havendo diferença estatisticamente significativa entre as amostras, com $p>0,05$ pela análise de variância.

Serafeimidou *et al*., (2013) também detectou C6 entre os ácidos graxos do iogurte com leite de vaca e assim como o C4, a concentração aumentou indo de 2,31 a 2,49 g $100g^{-1}$ após 14 dias de estocagem. No iogurte com adição de polpa de açaí de Santo *et al*. (2010), observou-se que com a polpa, a concentração de C6:0 foi de 0,47 g $100g^{-1}$. Guler *et al*. (2010) observou uma concentração de 0,16% deste ácido graxo em leite.

Os ácidos C8:0. C10:0 e C12:0, são ácido graxos de cadeia média. No trabalho de Florence *et al*. (2012), pode-se observar a diminuição da concentração dos AGCM ao longo da fermentação após armazenamento de 7 dias em iogurte convencional probiótico (24,0 para 21,7%) e no iogurte orgânico probiótico (22,7 para 21,1%) não houve muita alteração da concentração durante a fermentação.

O ácido octanóico foi identificado em seis amostras de iogurte e em três de bebida láctea fermentada, com concentrações médias de 1,15 ± 0,40 e 1,34 ± 0,30 g

$100g^{-1}$ respectivamente. Observando-se então concentração próxima de C8:0 nas amostras de iogurte e de bebida láctea fermentada, com p>0,05, indicando que não houve diferença estatisticamente significativa.

Serafeimidou *et al*. (2013) também detectou C8:0 entre os ácidos graxos de iogurte aumentando sua concentração de 1,76 a 1,87 g $100g^{-1}$ após 14 dias de armazenamento. Guler *et al*. (2010) observou uma concentração de 0,15% deste ácido graxo em leite. Os resultados deste trabalho estão de acordo com Serafeimidou *et al*. (2013).

O ácido decanóico foi encontrado em sete amostras de iogurte com concentração média de 1,80 ± 0,47 g $100g^{-1}$ e em oito de bebida láctea fermentada com concentrações de 2,03 ± 1,27 g $100g^{-1}$. No iogurte, este ácido graxo obteve um valor menor nas amostras de iogurtes do que nas de bebida láctea fermentada, mas a análise estatística indicou que não houve diferença significativa, com p>0,05.

Serafeimidou *et al*. (2013) observou pequeno aumento de C10:0, indo de 4,11 para 4,64 g $100g^{-1}$ após 14 dias de armazenamento. Já Santo *et al*. (2010) observou uma concentração de 0,62 g $100g^{-1}$ deste ácido graxo em iogurte com adição de polpa de açaí. Desta forma, observa-se que mesmo na literatura, há divergência nos resultados.

O ácido dodecanóico foi quantificado em nove amostras de iogurte com a concentração de 2,21 ± 1,09 g $100g^{-1}$ e em todas as dez amostras de bebida láctea fermentada com 4,34 ± 3,15 g $100g^{-1}$. A bebida láctea fermentada apresentou valor médio acima do teor encontrado nas amostras de iogurte deste ácido graxo. A análise de variância indicou diferença significativa no teor de C12:0 entre as amostras de iogurte e bebida láctea, com p<0,05 (p=0,04).

Serafeimidou *et al*. (2013) observou aumento da concentração de C12:0, indo de 4,62 à 5,16 g $100g^{-1}$ após 14 dias de estocagem e Guler *et al*. (2010) observou uma concentração de 1,64 % deste ácido graxo em leite. Estes resultados indicam que mesmo na literatura há divergência quanto ao teor deste de C12:0.

Os ácidos C14:0 ao C20:0, são ácido graxos de cadeia longa. Florence, *et al*. (2012), observou que houve aumento significativo nas concentrações dos AGCL durante a fermentação após armazenamento de 7 dias em iogurte convencional probiótico (70,1 para 73,4%) e no iogurte orgânico probiótico (71,7 para 72,5%). E no estudo de Santo *et al*. (2010) em iogurtes adicionados de polpa de açaí, a concentração de AGCL aumentaram com a adição da polpa comparado ao iogurte controle (sem a adição de açaí).

O ácido tetradecanóico foi quantificado em oito das amostras de iogurte com concentração de 6,39 ± 2,72 g $100g^{-1}$ e nas bebidas lácteas fermentadas foi detectado

em nove amostras com concentração média de 9,43 ± 5,23 g $100g^{-1}$. Pode-se observar que as amostras de bebida láctea apresentaram valor a cima do obtido nas amostras de iogurte. E a análise de variância indicou diferença significativa no teor de C14:0 entre as amostras de iogurte e bebida láctea, com $p<0,05$ ($p=0,03$).

No estudo de Guler *et al*. (2010) em leite comercial da Turquia, o C14:0 apresentou concentração varando entre 8,13 a 9,42% e ficou entre as maiores concentrações apresentadas no leite. Assim como no trabalho de Serafeimidou *et al*. (2013), que observou o ácido tetradecanóico ou mirístico entre as maiores concentrações em iogurte com leite bovino (14,32 g $100g^{-1}$), ovelha (12,00 g $100g^{-1}$). E Florence *et al*. (2012) obteve concentrações de 12,1 e 12,7% de C14:0 em leite convencional e orgânico respectivamente.

Estes resultados indicam diferentes concentrações, mostrando divergências quanto ao teor deste de C14:0.

O ácido palmítico foi quantificado em cinco das amostras de iogurte e cinco das amostras de bebida láctea fermentada. Nos iogurte a concentração foi de 10,66 ± 6,88 g $100g^{-1}$ e nas bebidas lácteas fermentadas foi de 13,38 ± 8,13 g $100g^{-1}$. Observando-se que nas amostras de iogurte e de bebidas lácteas fermentadas, o teor de C16:0 foi o mais abundante entre todos os ácidos graxos. A análise de estatística indicou que não houve diferença significativa no teor de C16:0 entre as amostras de iogurte e bebida láctea, com $p>0,05$.

Guler *et al*. (2010) observou concentração de C16:0 variando de 30,85 a 32,20% em leite convencional, sendo o ácido graxo de maior concentração. Serafeimidou *et al*. (2012) também observou em suas análises que o ácido palmítico foi o mais abundante especialmente em iogurtes tipo light. Florence *et al*. (2012) obteve C16:0 com teor de 28,9 e 31,9% em leite convencional e orgânico respectivamente, sendo também o mais abundante entre os ácidos graxos quantificados. Serafeimidou *et al*. (2013) estudou iogurtes com leite de vaca e também obteve C16:0 como o ácido graxo saturado mais predominante entre as amostras analisadas e ainda o aumento da sua concentração após 14 dias armazenado a 5 ^{0}C, indo de 34,93 a 36,80 g $100g^{-1}$.

O ácido palmítico é um ácido graxo saturado de cadeia longa e eleva o nível de lipoproteínas de baixa densidade (LDL – colesterol) promovendo a hipercolesterolemia. Ele age diferente dos ácidos graxos poliinsatrurados, que reduzem os níveis de LDL (LIMA *et al.*, 2000), não sendo um AG desejável, mas normalmente apresenta as maiores concentrações entre os AGS.

O C18:0 foi quantificado em sete amostras de iogurte com 7,82 ± 3,76 g $100g^{-1}$ de concentração e em oito amostras de bebida láctea fermentada com concentração

de 10,64 ± 7,55 g $100g^{-1}$. A bebida láctea fermentada apresentou concentração maior do que as amostras de iogurte. E ainda assim a análise de variância não indicou diferença significativa entre as amostras, com p>0,05. O ácido esteárico foi o segundo ácido graxo com maior número concentração em ambas as amostras.

No estudo de Guler *et al*. (2010) houve variação de 13,79 até 14,79% de C18:0, sendo também um dos ácidos graxos de maior concentração. Santo *et al.* (2010) observou um teor de 1,89 g $100g^{-1}$ deste ácido em iogurte adicionado de polpa de açaí. Florence *et al*. (2012) obteve 9,6 e 12,2% de concentração de C18:0 em iogurte convencional e orgânico respectivamente, observando assim uma maior concentração deste ácido graxo no iogurte orgânico. Serafeimidou *et al*. (2013) constatou que este ácido graxo diminuiu sua concentração após 14 dias de estocagem à 5 ^{0}C em iogurte com leite de vaca, indo de 8,75 a 7,68 g $100g^{-1}$.

O resultado do teor de ácido esteárico em iogurte está de acordo com Serafeimidou *et al*. (2013).

O C:20 foi identificado em apenas uma das amostras de bebida láctea fermentada, com 0,97 ± 0,00 g $100g^{-1}$ e em nenhuma de iogurte. Serafeimidou *et al*. (2013) observou em seus estudo um baixo teor deste ácido graxo, mas que ao longo de 14 dias estocado à 5 ^{0}C, sua concentração aumentou em iogurte com variação de 0,06 a 0,08 g $100g^{-1}$.

Os ácido graxos monoinsaturados, como C16:1 e C18:1 não interferem no nível de colesterol, como alguns AGCL saturados (C14:0 e C 16:0) (LIMA *et al.*, 2000).

O ácido miristolieco foi encontrado em três amostras de iogurte e em uma de bebida láctea fermentada com concentrações de 2,44 ± 1,39 e 3,01 ± 0,00 g $100g^{-1}$ respectivamente. A análise estatística indicou que não há diferença significativa entre as amostras analisadas, com p>0,05.

O ácido pentadecanóico foi encontrado em três amostras de iogurte e quatro de bebida láctea fermentada com concentrações de 4,01 ± 0,79 e 5,59 ± 4,00 g $100g^{-1}$ respectivamente, observando-se que a concentração da bebida láctea é próxima à concentração de iogurte. A análise de variância indicou que não há diferença significativa entre as amostras analisadas, com p>0,05.

O acido palmitoleico foi quantificado em cinco das amostras de iogurte com concentração 4,84 ± 2,11 g $100g^{-1}$ e em três de bebida láctea com concentração 3,65 ± 1,95 g $100g^{-1}$. Foram encontrados valores relativamente próximos entre os dois produtos analisados. Por isso, a análise de variância indicou que não há diferença significativa, com p>0,05.

Este ácido foi identificado também por Florence *et al*. (2012), em que foram obtidas concentrações de 1,5% (iogurte convencional) e 1,9% (iogurte orgânico). As

concentrações encontradas foram mais baixas do que nos ácido graxos saturados, pois o C16:1 é um ácido graxo poliinsaturado (FLORENCE *et al*., 2012). No estudo de Serafeimidou *et al*. (2013) foi observado que a concentração deste ácido graxo diminuiu após 14 dias à 5 ^{0}C, indo de 1,80 a 1,75 g 100g^{-1} e Santo *et al*. (2010) obteve concentração de 3,98 g 100g^{-1} em iogurtes adicionados de polpa de açaí. As amostras de analisdas nesta estudo encontram-se um pouco acima dos resultados citados da literatura.

O ácido oleico foi quantificado em sete amostras de iogurte e seis de bebida láctea fermentada. No iogurte a concentração foi de 7,71 ± 3,42 g 100g^{-1} e nas bebidas lácteas, de 7,94 ± 5,35 g 100g^{-1}. Observando-se que as concentrações médias das amostras de iogurte e de bebida láctea ficaram próximas e a análise de variância indicou que não houve diferença significativa entre as amostras, com p>0,05.

Guler *et al*. (2010) observou que entre os ácidos graxos monoinsaturados o oleico obteve a maior concentração, com variação de 27,40 e 29,18% em suas amostras de leite comercial, como Prandini *et al*. (2007), que encontrou 21,61% deste ácido graxo em leite fermentado. Florence *et al*. (2012) detectou concentrações de 21, 3% (iogurte convencional) e 21,8% (iogurte orgânico) de C 18:1n9. Entre os MUFA, o oleico foi o de maior concentração, e este fato está de acordo com o trabalho de Guler *et al*. (2010).

Os ácidos graxos poliisaturados estão associados à redução do nível de colesterol e de lipoproteínas de baixa densidade no sangue (SUÁREZ-MAHECHA, 2002). Os principais PUFA encontrados em laticínios são o CLA e o ALA.

O ácido linolênico conjugado (C18:2n6 - CLA) foi encontrado em sete amostras de iogurte e cinco de bebida láctea fermentada, com concentrações de 2,03 ± 0,50 e 2,79 ± 1,64 g 100g^{-1}. Este ácido graxo está associado a benefícios nutricionais e implica na melhora da saúde humana, mas a concentração de CLA está relacionada a efeitos da fermentação microbiana. (BOYLSTON e BEITZ, 2002). Alguns métodos industriais contribuem para o aumento de CLA, como as reações de isomerase e redutase via biohidrogenação, como na produção de manteiga líquida e queijos envelhecidos, mas as práticas de produção de iogurte não contribuem significativamente para aumento deste ácido graxo (BOYLSTON e BEITZ, 2002).

No estudo de Serafeimidou *et al*. (2013) observou-se que após as amostras de iogurte ficarem sob refrigeração (5^{0}C) por 14 dias, o CLA diminuiu a sua concentração, indo de 0,41 a 0,24 g 100g^{-1}, este resultado foi atribuído ao fato de que o tipo de leite, o tipo de alimentação do bovino, o armazenamento e a refrigeração têm efeito direto na concentração final do CLA. Florence *et al*. (2012) obteve concentração de CLA de 0,8 e 1,2% em iogurte convencional e orgânico respectivamente. Santo *et al.* (2010)

encontrou uma concentração de 1,16 g $100g^{-1}$ de C18:2 em iogurte adicionado de polpa de açaí.

A partir destas análises pode-se concluir que a concentração de CLA pode variar, e isto deve-se ao fato que o tipo de microrganismo utilizado influencia no teor final deste ácido graxo.

O ácido α linolênico (C18:3n3 - ALA) foi detectado em três amostras de iogurte e em duas das bebidas lácteas fermentadas com teor de 2,18 ± 1,44 e 2,22 ± 0,65 g $100g^{-1}$ respectivamente. Pode-se observar que as concentrações nas duas matrizes foram bem próximas e a análise de variância indicou que não houve diferença significativa entre as amostras, com $p>0,05$. O ALA está associado à prevenção secundária de infarto de miocárdio (LIMA *et al.*, 2000).

Serafeimidou *et al*. (2013) observou que o C18:3n3 aumentou bem pouco a concentração sob refrigeração (5^0C) por 14 dias, indo de 0,01 a 0,02 g $100g^{-1}$. Santo *et al.* (2010) encontrou concentração de 0,88 g $100g^{-1}$ de C18:3 em iogurte adicionado de polpa de açaí. Concluindo-se que são esperadas baixas concentrações deste ácido graxo. Neste trabalho, as concentrações ficaram a cima dos resultados citados por outros autores.

Os AGCC (C4:0 e C6:0) apesentaram os menores teores e somados obtiveram concentrações de 2,83 ± 0,11 e 3,25 ± 0,42 g $100g^{-1}$ nas amostras de iogurte e bebida láctea respectivamente. Os AGCM (C8:0 a C12:0) apresentaram valores maiores do que os AGCC, com soma de 5,16 ± 0,53 g $100g^{-1}$ nos iogurtes e 7,71 ± 1,57 g $100g^{-1}$ nas bebidas láteas fermentadas. Os AGCL (C14:0 a C20:0) apresentaram as maiores concentrações e somaram 48,08 ± 3,15 g $100g^{-1}$ nas amostras de iogurte e 59,61 ± 4,16 g $100g^{-1}$ nas bebidas lácteas fermentadas.

Os ácidos graxos saturados estiveram presentes na maioria das amostras analisadas, com soma de 32,86 ± 3,66 e 45,38 ± 4,79 g $100g^{-1}$ em iogurte e bebida láctea respectivamente. Os monoinsaturados somam 19,01 ± 2,21 nas amostras de iogurte e 20,19 ± 2,22 g $100g^{-1}$ nas bebidas lácteas fermentadas, sendo o C18:1 o mais abundante nas duas matrizes. Os poliinsaturados somam 4,20 ± 0,11 nas amostras de iogurte e 5,01 ± 0,41 nas bebidas lácteas fermentadas

A porcentagem de AGS em iogurte foi de 58,60% e nas bebidas lácteas 64,30%; de AGM, 33,91% e 28,61% respectivamente e de AGP, as respectivas porcentagens foram de 7,49% e 7,10%. Sendo a gordura do leite tipicamente composta por 66% de ácidos graxos saturados, 30% de monoinsaturados e 4% de poliinsaturados, os teores de ácidos graxos estão dentro do esperado (CHEN, *et al*. 2004).

3.5. VOLÁTEIS

Foram identificados 62 componentes voláteis nas amostras analisadas. A Tabela 9 apresenta todos os compostos identificados e estes estão listados de acordo com seus respectivos índices de retenção linear na coluna CP-Wax 52 CB, e os IRLs encontrados por Condurso *et al*. (2008), *Ott et al*. (1997) em seus estudos em iogurte. A identificação dos compostos voláteis foi realizada partir de MEFS-CG-EM. Entre os compostos encontrados, tem-se ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, compostos aromáticos, ésteres e outros.

Tabela 9 – Compostos voláteis identificados

Compostos	Tr	IRL	Condurso	Ott	Iogurte	Bebida Láctea
ÁCIDOS						
Ácido acético	29,8	1421	1463	1498	X	X
Ácido 2-metil-butanóico	37,0	1660				X
Ácido acético	29,8	1421	1625		X	X
Ácido butanóico	34,7	1531			X	X
Ácido propanóico, 2-(aminoxi)	34,7	1531			X	
ÁLCOOL						
1-Butanol, 3-metil, acetato	12,2	1058			X	X
1-Hexanol	20,9	1258	1344			X
2-Furanometanol	36,3	1602	1659		X	X
2-Hexenal	15,5	1143			X	
3-Hexeno-1-ol	22,3	1284			X	
3-Hexeno-1-ol, acetato	19,3	1226			X	X
Etanol	7,6	901		956	X	X
ALDEÍDO						
Acetaldeído	6,9	877	735	709	X	X
Benzaldeído	29,3	1412	1530	1556		X
Hexanal	11,1	1026	1080	1094	X	X
Pentanal	8,7	940				X
CETONA						
2,3-Butanodiona	8,6	936	975	993	X	X
2,3-Pentanodiona	10,5	1006	1061	1076		X
2-Heptanona	14,2	1114	1182	1208	X	X
2-Nonanona	22,7	1292	1389	1389	X	X
2-propanona, 1-hidroxi	22,3	1286			X	X
2-undecanona	38,5	1829	1597	1623	X	X
6,10-dimetil-5,9-dodecadien-2-ona	7,1	882			X	X
Acetoína	17,9	1200	812		X	X
Acetona	5,9	841			X	X
COMPOSTO AROMÁTICO						

Compostos	Tr	IRL	Condurso	Ott	Iogurte	Bebida Láctea
3-metil-furano	6,6	866			X	X
Furfural	30,5	1435		1495	X	X
Tetrahidrofurano (THF)	6,5	862			X	X
Tolueno	12,8	1075	1044	1044	X	
ÉSTERES						
2-ácido octanoico, éster metílico	35,9	1583			X	
2-metil butanoato de butila	15,9	1154			X	
2-metil-butanoato de etila	10,3	1003			X	X
2-metil-butanoato de metila	9,3	965				X
3-metil-butanoato de etila	10,7	1015	924		X	X
Acetato de etila	6,8	874	900	894	X	X
Acetato de hexila	17,8	1197			X	X
Acetato de isopropila	7,0	880			X	X
Acetoacetato de etila	25,7	1348			X	X
Ácido acético, éster fenilmetílico	40,0	2096			X	X
Ácido butanóico, 3- éster metilbutílico	17,3	1185			X	X
Ácido butanóico, 3-metil, 3-éster metilbutílico	18,5	1211			X	X
Benzoato de etila	36,8	1650			X	X
Butanoato de butila	15,4	1142				X
Butanoato de etila	9,9	989	1035		X	X
Butanoato de metila	8,8	944			X	X
Heptanoato de etila	20,1	1242			X	
Hexanoato de etila	16,0	1134			X	X
Hexanoato de metila	14,3	1116			X	
Oxi acetato de metila	36,9	1658				X
Pentanoato de etila	12,7	1069			X	X
OUTROS						
1,3-Dioxolano	11,6	1041			X	X
1,3-dioxolano, 4-metil-2-pentil	19,6	1233				X
3,7-dimetil-1,6-Octadien-3-ol	30,4	1433			X	
Acetato de amônio	25,6	1346			X	X
Acetonitrila	9,1	958		1012	X	X
Ciclobuteno, 2-propenilidieno	12,8	1075			X	X
Decano	9,2	962				X
Diclorometano	7,6	899			X	X
Dodecano	11,1	1027				X
Hidrazinocarboxamida	4,9	809			X	X
Octano	5,7	836				X
Triclorometano (clorofórmio)	9,5	971	1022	1028	X	X

Legenda: Tr – Tempo de retenção, IRL – Índice de Retenção Linear; Condurso *et al.* (2008), Ott *et al.* (1997)

Dos 62 compostos identificados, 50 estão presentes nas amostras de iogurte e 53 nas bebidas lácteas fermentadas. No Anexo V pode-se verificar os voláteis identificados ordenados a partir do tempo de retenção, bem como a quantidade de amostras que cada composto foi identificado.

O ácido acético foi detectado em três amostras de iogurte e uma de bebida láctea fermentada. Segundo Ott *et al.* (1997) este composto contribui para o sabor azedo e de vinagre e o identificou tanto em leite quanto em iogurte com IRL 1498. Condurso *et al.* (2008) também detectou o ácido acético em suas amostras de iogurte com IRL de 1463, enquanto neste trabalho foi de 1421. Guller *et al*. (2009) considera este ácido um dos principais componentes produzidos pelas culturas de bactérias lácteas. O ácido acético fenilmetilico foi identificado em uma das amostras de iogurte e uma entre as de bebidas lácteas fermentadas.

O ácido butanoico é um ácido graxo e foi identificado em oito amostras tanto de iogurte quanto de bebida láctea. Condurso *et al.* (2008) também o identificou e percebeu que um aumento em sua concentração após 22 dias de estocagem a 4^0C, indo de 1223 a 1359 mg Kg^{-1} e obteve de IRL 1625, enquanto neste estudo foi de 1531.

O 1-hexanol não foi encontrado nas amostras de iogurte e foi identificado em apenas uma das amostras de bebida láctea fermentada. Condurso *et al.* (2008) identificou este composto e observou que a concentração dele aumentou após 40 dias a 4^0C e seu IRL foi de 1344 e neste trabalho o índice foi 1257.

O 2-furanometanol esteve presente em seis amostras de iogurte e duas de bebida láctea fermentada. Foi também encontrado no estudo de Ott *et al.* (1997) em iogurte com IRL de 1659, enquanto neste trabalho foi de 1602. No trabalho de Guller *et al*. (2009), este composto foi identificado em amostras de iogurte do 1^0 ao 7^0 dia de armazenamento, e segundo ele, o 2-furanometanol pode ser obtido a partir da redução do furfural pela ação do álcool desidrogenase e este composto causa aroma de cozido em produtos lácteos.

O etanol foi detectado em cinco das amostras de iogurte e oito de bebida láctea fermentada. Este composto foi encontrado no trabalho de Ott *et al.* (1997) em amostras de iogurte com IRL de 956 e neste trabalho foi encontrado um valor de 900. No trabalho de Beshkova (1998), este composto também foi encontrado em uma concentração de 58,0 µg $100g^{-1}$. Segundo Vahcic e Hruskar (2000) a concentração de etanol, assim como de acetaldeído e de diacetil são modificados durante o armazenamento dependendo da duração e da temperatura. A enzima álcool desidrogenase é responsável pela conversão de acetaldeído em etanol (ROUTRAY e MISHRA, 2011). O etanol também pode ser formado a partir das BAL, onde ocorre a

rápida conversão dos carboidratos fermentáveis em ácido lático e também outros ácidos orgânicos como ácido acético, fórmico o etanol.

O acetaldeído esteve presente em oito amostras de iogurte e de bebida láctea fermentada. Este composto é considerado o principal componente volátil em iogurte e pode ser produzido durante a fermentação a partir da glucose diretamente via piruvato; da glucose através da formação de piruvaro e em seguida da acetil coenzima A; da glucose através da formação de D-xilulose-5-fosfatase, depois acetil-P e em seguida acetato; pela degradação da timidina ou a partir da treonina, que é a principal fonte de produção de acetaldeído em iogurte fermentado (SMID e KLEEREBEZEM, 2014). O caminho direto da produção deste composto por BAL é a partir da treonina aldolase, que catalisa a reação de produção do acetaldeído e de glicina (YILDIZ, 2009). No trabalho de Vahcic e Hruskar (2000), o acetaldeído diminuiu sua concentração de 4,0 ppm a 4^0C (2,5 ppm), 20^0C (1,3 ppm) e 37^0C (0,7 ppm) durante 25 dias de armazenamento em leite fermentado probiótico. No trabalho de Condurso *et al.* (2008) este composto foi detectado em amostras de iogurte e encontrou-se um IRL de 735 e no estudo de Ott *et al.* (1997) o acetaldeído também estava presente com IRL de 709 e no presente trabalho foi de 877.

O bezaldeído não esteve presente em nenhuma das amostras de iogurte e em três das amostras de bebida láctea. Ott *et al.* (1997) identificou este composto em suas amostras de iogurte, com IRL de 1556, enquanto Condurso *et al.* (2008) não detectou este composto em iogurte, encontrando apenas em suas amostras de queijo, com IRL de 1530. Neste trabalho o IRL encontrado foi de 1411.

O hexanal foi detectado em duas amostras de iogurte e uma de bebida láctea fermentada. Este composto foi também identificado em iogurte por Ott *et al* (1997) com IRL igual a 1094, já no estudo de Condurso *et al.* (2008) o hexanal não foi encontrado nas amostras de iogurte e foi detectado em queijo de leite da cabra, com IRL de 1080, enquanto neste estudo foi de 1025.

O composto 2,3-butanodiona, também conhecido por diacetil, foi detectado em quatro das amostras de iogurte e seis nas bebidas lácteas fermentadas. É uma cetona com sabor característico amanteigado e pungente (paladar forte), que remete ao sabor de baunilha sendo considerado um dos principais componentes no aroma de leites fermentados (CONDURSO *et al.*, 2008, OTT *et al.*, 1997). Os precursores da formação de 2,3-pentanodiona são o citrato e a lactose, onde alguns autores acreditam que a produção de diacetil é exclusivamente a partir do *S. thermophilus* como Rasic e Kurmann (1978), enquanto outros acreditam que a maior parte de produção é a partir de *L. burgaricus* como Beshkova *et al*. (1998) (ROUTRAY e MISHRA, 2011). Ott *et al.* (1997) encontrou este composto entre os voláteis em iogurte com IRL de 993, assim

como Condurso *et al.* (2008), que obteve IRL de 975. Neste estudo o IRL foi de 935, valor próximo aos obtidos nos outros estudos.

A 2,3-pentanodianona não foi detectada em nenhuma das amostras de iogurte e em apenas uma das amostras de bebida láctea fermentada. Segundo Ott *et al.* (1997) este composto dá o sabor de azedo quando encontrado em iogurtes e foi identificado entre os voláteis em suas amostras de iogurte, com IRL de 1076. Condurso *et al.* (2008) também detectou este cetona em iogurte com IRL de 1061, enquanto neste estudo foi de 1006.

A 2-hepatanona foi detectada em seis amostras de iogurte e seis das bebidas lácteas. Este composto foi encontrado nos estudos de Ott *et al.* (1997) e Condurso *et al.* (2008) em iogurte com IRL de 1208 e 1182 e neste trabalho foi de 1114. Segundo Condurso *et al.* (2008) a 2-heptanona é um dos principais componentes na produção de laticínios e após a data de validade, aumentando de 4,9 a 5,8 mg Kg^{-1}. Esta cetona possui sabor cremoso e fresco (CONDURSO *et al*., 2008).

A 2-nonanona estava presente em seis das amostras de iogurte e em duas das de bebida láctea fermentada. Este composto foi também identificado no estudo de Ott *et al.* (1997) e de Condurso *et al.* (2008) em iogurte com IRL de 1389 em ambos os trabalhos, enquanto neste estudo foi de 1292. A 2-nonanona contribui para o sabor cremoso e fresco em produtos lácteos.

A 2-undecanona foi detectada em três das amostras de iogurte e em uma das amostras de bebida láctea fermentada. Este composto também foi identificado no estudo de Ott *et al.* (1997) e Condurso *et al.* (2008) em iogurte com IRL de 1623 e 1597 respectivamente, neste estudo o valor de IRL foi de 1829.

A acetoína também conhecida por 3-hidroxi-2-butanona foi identificada em quatro amostras de iogurte e em seis de bebida láctea fermentada. Segundo Condurso *et al.* (2008) este é um composto que ocorre durante a fermentação em iogurte a partir de transformações químicas que podem envolver produtos da degradação térmica, sendo um produto formado principalmente após a data de vencimento da validade. Guller *et al*. (2009) também encontrou acetoína entre os voláteis em iogurte e também percebeu que sua concentração aumentou durante o armazenamento indo de 2,2 a 28,2 mg Kg^{-1} do dia 1 até o dia 21 e segundo ele este composto é formado pelo citrato e pela lactose a partir da atividade das bactérias ácido láticas.

A acetona foi encontrada em duas amostras de iogurte e sete de bebida láctea fermentada. É uma 2-cetona, que foi identificada no estudo de Condurso *et al.* (2008) com um IRL equivalente a 812 nas amostras de iogurte, pouco menor do que o encontrado neste trabalho de IRL 840. Estava presente também entre os voláteis no trabalho de Guller *et al*. (2009) em iogurte e demonstrou uma grande variação

dependendo da cultura utilizada e foi observado que quanto maior o tempo de armazenamento, maior foi a concentração de acetona. Outro trabalho de Guller e Park (2011), encontrou-se significante diferença na concentração de acetona ($p<0,001$) entre várias marcas de iogurte turco e acredita-se que esta diferença deve-se ao fato de que a metil-cetona é derivada da β-oxidação de ácidos graxos livres, dependendo assim da atividade lipolítica das culturas. Os ácidos graxos saturados como o butanóico e o hexanóico têm relação inversa à acetona. Para Routray e Mishra (2011), este é um dos mais importantes compostos formados em laticínios.

O furfural estava presente em cinco amostras de iogurte e duas de bebida láctea fermentada. Ott *et al.* (1997) também encontrou este composto em suas amostras de iogurte, com IRL igual a 1495, próximo ao IRL encontrado neste estudo, de 1434. Segundo Guller *et al*. (2009) a glucose em presença de L-alanina pode perder o átomo C-6 para produzir a pentose, que é responsável pela produção de furfural pela ação da álcool desidrogenase. Este composto causa aroma de cozido em produtos lácteos.

O tolueno foi encontrado em três amostras de iogurte e em nenhuma das amostras de bebida láctea. O tolueno foi identificado nos estudos de Ott *et al.* (1997) em iogurte e Condurso *et al.* (2008) em iogurte de leite de cabra com IRL de 1044 em ambos os trabalhos, valor próximo ao calculado neste trabalho, de 1075.

O 3-metil-butanoato de etila foi detectado em quatro amostras de iogurte e cinco de bebida láctea. Este composto foi identificado por Condurso *et al.* (2008), mas apenas em amostras de queijo, com IRL de 924, um pouco abaixo do calculado neste estudo, de 1015.

O acetato de etila foi encontrado em cinco das amostras de iogurte e oito das de bebida láctea fermentada. Ele foi identificado no trabalho de Ott *et al.* (1997) em iogurte e Condurso *et al.* (2008) não encontrou em iogurte, apenas em queijo.

O butanoato de etila foi identificado em cinco das amostras de iogurte e em oito das de bebida láctea. Ele também identificado por Condurso *et al.* (2008), mas apenas em amostras de queijo, com IRL de 1035, um pouco a cima do calculado neste estudo, de 988.

O acetato de amônia foi detectado em sete amostras de iogurte e oito de bebida láctea. Segundo Miguel (2003) o acetato está entre os produtos finais do metabolismo, enquanto o acetaldeído e o diacetil são produtos intermediários e sofrem catabolismo, podendo ser reduzidos a outros compostos como o acetato.

A acetonitrila foi detectada em três amostras de iogurte e cinco de bebida láctea. Para Cheng (2010), este composto é considerado como contaminação por solvente e Ott *et al.* (1997) encontrou este composto entre os voláteis em iogurte

mesmo não tendo utilizado acetonitrila como solvente, então acredita que possa ter origem no leite. Ott *et al.* (1997) obteve IRL de 1012, próximo ao encontrado neste estudo, de 957.

O cloreto de metileno foi identificado em oito amostras de iogurte e cinco de bebidas lácteas fermentadas. Condurso *et al.* (2008) não encontrou este composto em suas amostras de iogurte, mas identificou em queijo de cabra e observou o LRI de 935, que ficou abaixo do encontrado neste trabalho, de 1066.

O triclorometano, também conhecido como clorofórmio, foi identificado em nove amostras de iogurte e de bebida láctea e segundo Cheng (2010) este composto é considerado como uma contaminação por solvente. Entretanto ele foi também identificado nos estudos de Ott *et al.* (1997) em iogurte e Condurso *et al.* (2008) em iogurte de leite de cabra com IRL de 1028 e 1022 respectivamente, enquanto neste trabalho foi de 971.

Entre os compostos mais importantes e citados por outros autores que formam detectados, tem-se: acetaldeído, acetona, etanol, 2-3 butanodiona (diacetil) e acetoína. De ácido orgânico, foi identificado o ácido acético e entre os ácidos graxos foi encontrado o ácido butanóico.

3.6. RESUMO GERAL DAS ANÁLISES

Na Tabela 10 – Resumo geral dos resultados obtidos é apresentado um resumo geral das análises com os valores obtidos nas amostras, a estatística a partir da análise de variância (ANOVA) e a legislação vigente.

Tabela 10 – Resumo geral dos resultados obtidos

ANÁLISE	IOGURTE	BEBIDA LÁCTEA	ESTATÍSTICA	LEGISLAÇÃO	
COMPOSIÇÃO CENTESIMAL				**IOGURTE**	**BEBIDA LÁCTEA**
Umidade (%m m^{-1})	82,12 ± 0,21	83,08 ± 0,06	p>0,05	-	-
Proteína (%m m^{-1})	4,87 ± 0,42	2,72 ± 0,13	p<0,05	mín. 2,9	mín. 1,0 - 1,7
Lipídio (% g 100 mL^{-1})	2,00 ± 0,07	1,32 ± 0,06	p>0,05	entre 0,50 - 5,90	mín. 2,0
MINERAIS				**IRD**	**UL**
Cálcio (mg g^{-1})	1,36 ± 0,36	1,07 ± 0,36	p>0,05	1000 mg	2500 mg
Ferro (mg g^{-1})	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	p>0,05	14 mg	45 mg
Potássio (mg g^{-1})	1,60 ± 0,29	1,41 ± 0,21	p>0,05	4700 mg	-
Magnésio (mg g^{-1})	0,16 ± 0,04	0,11 ± 0,01	p<0,05	260 mg	350 mg
Sódio (mg g^{-1})	0,74 ± 0,15	0,68 ± 0,09	p>0,05	1500 mg	2300 mg
ÁCIDOS ORGÂNICOS					
Ácido Cítrico (mg mL^{-1})	1,99 ± 0,48	1,75 ± 0,45	p>0,05	-	-
Ácido Lático (mg mL^{-1})	0,67 ± 0,19	0,65 ± 0,21	p>0,05	-	-
Ácido Fórmico (mg mL^{-1})	-	0,81 ± 0,34	p<0,05	-	-
Ácido Acético (mg mL^{-1})	6,63 ± 4,36	2,86 ± 1,26	p>0,05	-	-
ÁCIDOS GRAXOS					
C16:0 (ácido palmítico) (g 100 g^{-1})	10,66 ± 6,88	13,38 ± 8,13	p>0,05	-	-
C18:1n9 (ácido oleico) (g 100 g^{-1})	7,71 ± 3,42	7,94 ± 5,35	p>0,05	-	-
C18:2n6 (CLA) (g 100 g^{-1})	2,03 ± 0,50	2,79 ± 1,64	p>0,05	-	-
C18:3n3 (ALA) (g 100 g^{-1})	2,18 ± 1,44	2,22 ± 0,65	p>0,05	-	-
Ácidos graxos saturados (g 100 g^{-1})	32,86 ± 3,66	45,38 ± 4,79	-	-	-
Ácidos graxos monoinsaturados (g 100 g^{-1})	19,01 ± 2,21	20,19 ± 2,22	-	-	-
Ácidos graxos poliinsaturados (g 100 g^{-1})	4,20 ± 0,11	5,01 ± 0,41	-	-	-
VOLÁTEIS					
2-3 butanodiona (diacetil)	Presente	Presente	-	-	-
Acetaldeído	Presente	Presente	-	-	-

ANÁLISE	IOGURTE	BEBIDA LÁCTEA	ESTATÍSTICA	LEGISLAÇÃO	
Acetoína	Presente	Presente	-	-	-
Acetona	Presente	Presente	-	-	-
Etanol	Presente	Presente	-	-	-

4. CONCLUSÃO

O teor de umidade ficou próximo nas amostras de iogurte e bebida láctea fermentada, o teor de proteína nas amostras apresentaram valores aceitáveis pela legislação vigente e o teor de lipídios nas amostras de iogurte encontrou-se dentro da legislação, mas nas bebidas lácteas fermentadas o valor mostrou-se abaixo da legislação.

As amostras de iogurte apresentaram teores maiores de minerais majoritários quanto ao IRD em relação à bebida láctea fermentada. O cálcio apresentou-se como o mineral de maior ingestão entre os adultos tanto em iogurte quanto na maioria das amostras de bebida láctea. Os minerais minoritários estiveram abaixo do limite detectável tanto nas amostras de iogurte quanto nas de bebida láctea fermentada.

Quanto aos ácidos orgânicos, as amostras de iogurte apresentaram maiores concentrações de ácido cítrico, lático e acético quanto as amostras de bebida láctea fermentada e o ácido fórmico não foi detectado em iogurte, apenas em bebida láctea.

As amostras de iogurte demonstraram melhor perfil de ácidos graxos em relação às de bebida láctea fermentada, onde pode-se observar maior teor de ácidos graxos moniistarurados e poliinsaturados enquanto as bebidas lácteas apresentaram maior teor de ácidos graxos saturados.

Entre os compostos voláteis mais importantes que formam detectados em ambas as matrizes têm-se: acetaldeído, acetona, etanol, 2-3 butanodiona (diacetil) e acetoína.

Os resultados indicam que as amostras de iogurtes demonstraram melhor perfil quanto aos teores de minerais e de ácidos graxos, mas ainda assim podem ser considerados produtos semelhantes, já que a maioria das análises não apresentou diferença significativamente estatística.

BIBLIOGRAFIA

ADHIKARI, K.; GRUW, I.U.; MUSTAPHA, A.; FERNANDO, L.N. Changes in the profile of organic acids in plain set and stirred yogurts during manufacture and refrigerated storage. Journal of Food Quality, v. 25, n. 5, p. 435-451, 2002.

ALONSO, L.; FRAGA, M. Simple and Rapid Analysis for Quantitation of the Most Important Volatile Flavor Compounds in Yogurt by Headspace Gas Chromatography – Mass Spectrometry. Journal of Chromatographic Science, v. 39, n. 7, p. 297-300, 2001.

ANEJA, R.P. e MURTHI, T.N. Conjugated linoleic acid contents of Indian curds and ghee. Indian Journal of Dairy Science, v. 43, n. 2, p. 231-238, 1990.

ARRIZON, J.; C. CALDER e G. SANDOVAL. Effect of different fermentation conditions on the kinetic parameters and production of volatile compounds during the elaboration of a prickly pear distilled beverage. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, v. 33, n. 11, p. 921-928, 2006.

AYAR, A.; SERT, D.; AKIN, N. The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia-Turkey. Environmental Monitoring and Assessment, v. 152, n. 152, p. 1-12, 2009.

AYYASH, M.M.; SHERKAT; SHAH, F.N.P. The effect of NaCl substitution with KCl on Akawi cheese: Chemical composition, proteolysis, angiotensin-converting enzyme-inhibitory activity, probiotic survival, texture profile, and sensory properties. Journal of Dairy Science, v. 95, n. 9, p. 4747-4759, 2012.

BAGLIO, E. Chemistry and Technology of Yoghurt Fermentation. Springer briefs in molecular Science, Chemistry of foods, 2014.

BALDISSERA, A.C.; BETTA, F.D.; PENNA, A.L.B.; LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. Semina: Ciências Agrárias, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.

BENJAMIN, S. e SPENER, F. Conjugated linolenic acids as functional food: an insight into their health benefits. Nutrition & Metabolism, v. 6, n. 1, p. 36-48, 2009.

BENSMIRA, M. e JIANG, B. Organic Acids Formation During the Production of a Novel Peanut-Milk Kefir Beverage. British Journal of Dairy Sciences, v. 2, n. 1; p. 18-22, 2011.

BERGAMO, P.; FEDELE, E.; IANNIBELLI, L.; MARZILLO, G. Fat-soluble vitamin contentes and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. Food Chemistry, v. 82, n. 4, p. 625-631, 2003.

BOYLSTON, T.D. e BEITZ, D.C. Conjugated Linoleic Acid and Fatty Acid Composition of Yogurt Produced from Milk of Cows Fed Soy Oil and Conjugated Linolenic Acid. Journal of Food and Science, v. 67, n. 5, p. 1973-1978, 2002.

BRANDÃO, G.C., JESUS, R.M.; SILVA, E.G.P.; FERREIRA, S.L.C. Use of slurry sampling for the direct determination of zinc in yogurt by high resolution-continuum source flame atomic absorption spectrometry. Talanta, v. 81, n. 4-5, p. 1357–1359, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IRD) de proteína, vitaminas e minerais. 2005, a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n^0 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade de leite tipo b. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n^0 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. 2005, b.

BRASIL, 2007. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. 2007.

BROWN, I.J., TZOULAKI, I., CANDEIAS, V., ELLIOTT, P. Salt intakes around the world: implications for public health. International Journal of Epidemiology, v. 38, n. 3, p. 791–813, 2009.

CANCELA, S. e YEBRA, M.C. Flow-Injection Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Trace Amounts of Cadmium in Solid and Semisolid Milk Products Coupling a Continuous Ultrasound-Assisted Extraction System whith the Online Preconcentration on a Chelating Aminomethylphosphoric Acid Resin. Journal of AOAC International, v. 89, n. 1, p. 185-191, 2006.

CASTRO, W.F. Efeito da concentração de soro de queijo na produção e qualidade sensorial de bebidas lácteas probióticas. Dissertação de Doutorado, Programa de Tecnologia de Alimentos, UNICAMP, São Paulo, 2012.

CECCHI, H.M. Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos. 2ª edição, Campinas, Editora da Unicamp, 2003.

CHAVES, A.C.S.D.; RUAS-MADIEDO, P; STARRENBURG, M.; HUGENHOLTZ, J.; LERAYER, A.L.S. Impact of engineered *Streptococcus thermophilus* strains overexpressing glya gene on folic acid and acetaldehyde production in fermented milk. Brazilian Journal of Microbiology, v. 34, n. 1, p. 114-117, 2003.

CHEN, S.; BOBE, G.; ZIMMERMAN, S.; HAMMOND, E.G.; LUHMAN; C.M.; BOYLSTON, T.D.; FREEMAN, A.E.; BEITZ; D.C. Physical and Sensory Properties of Dairy Products from Cows with Various Milk Fatty Acid Compositions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 52, n. 11, p. 3422-3428, 2004.

CHENG, H. Volatile Flavor Compounds in Yogurt: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 50, n. 10, p. 938–950, 2010.

CONDURSO, C.; VERZER, A.; ROMEO, V.; ZIINO, M.; CONTE, F. Solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product

volatiles for the determination of shelf-life. International Dairy Journal, v. 18, n. 8, p. 819–825, 2008.

CORREA, M.I.C., CHAVES, J.B.P., JHAM, G.N., RAMOS, A.M., MINIM, V.P.R., YOKOTA, S.R.C. Changes in guava (*Psidiumguajava L. var. Paluma*) nectar volatile compounds concentration due to thermal processing and storage. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n. 4, p. 1061-1068, 2010.

COURTIN, P. e RUL, F. Interactions between microorganisms in a simple ecosystem: yogurt bacteria as a study model. Le Lait, v. 84, n. 1-2, p. 125–134, 2003.

CRUZ, A.G. Efeito da glicose oxidase sobre a viabilidade de bactérias probióticas em iogurte. Dissertação de Doutorado, Tecnologia de Alimentos, UNICAMP, São Paulo, 2010.

DATAMARK Ltda. Brasil pack 09 – a indústria brasileira de embalagens. Edição 24. São Paulo, 2009.

EKINCI, F.Y.; OKUR, O.D.; ERTEKIN, B.; GUZEL-SEYDIM, Z. Effects of probiotic bacteria and oils on fatty acid profiles of cultured cream. European Journal of Lipid Science and Technology, v. 110, n. 3, p. 216-224, 2008.

EPAMIG. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. Tecnologia de fabricação de bebida láctea fermentada e não fermentada. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, p. 20, 2010.

FACUNDO, H.V.V.; GARRUTI, D.S.; ALVES. V.C.C.; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. Procedimento para Análise de Compostos Voláteis de Banana pela Técnica de Microextração em Fase Sólida. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2011.

FARIA, D.S. Estudo dos efeitos da aplicação de transglutaminase em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro. Dissertação de Mestrado, Engenharia de Processos Químicos e Boquímicos, Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2010.

FENNEMA, O.R; DAMODARAN, S; PARKIN, K.L. Química de Alimentos de Fennema. 4ª edição, Porto Alegre, Editora Artmed, 2010.

FERNANDEZ-GARCIA, E. e MCGREGOR, J.U. Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt. Journal of Dairy Science, v. 77, n. 10, p. 2934-2939, 1994.

FLORENCE, A.C.R.; BÉAL, C.; SILVA, R.C.; BOGSAN, C.S.B; PILLEGGI, A.L.O.S.; GIOIELLI, L.A.; OLIVEIRA, M.N. Fatty acid profile, trans-octadecenoic, a-linolenic and conjugated linoleic acid contents differing in certified organic and conventional probiotic fermented milks. Food Chemistry, v. 135, n. 4, p. 2207-2214, 2012.

FOLHA DE SÃO PAULO. Consumo de lácteos sobe 23% em 7 anos. Disponível em http://www1.folha.uol.com.br/fsp/mercado/25176-consumo-de-lacteos-sobe-23-em-7-anos.shtml. Acessado em: 26/08/2014.

GOLDHABER, S.B. Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 38, n. 2, p. 232–242, 2003.

GOMES, M.R.; ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 11, n. 5, p. 262-266, 2005.

GONÇALVES, J.R.; MESQUITA, A.J.; GONÇALVES, R.M. Determinação de metais pesados em leite integral bovino pasteurizado no estado de Goiás. Ciência Animal Brasileira, v. 9, n. 2, p. 365-374, 2008.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase. Journal of Nutrition, v. 130, n. 9, p. 2285-2291, 2000.

GUEDES, A.F.L.M.; MACHADO, E.C.L; FONSECA, M.C.; ANDRADE S.A.C.; STAMFORD, T.L.M. Aproveitamento de soro lácteo na formulação de bebidas com frutas e hortaliças. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 65, n. 4, p. 1231-1238, 2013.

GULER, G.O.; CAKMAK, Y.S.; ZENGIN, G.; AKTUMSEK, A.; AKYILDIZ, K. Fatty Acid Composition and Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content of Some Commercial Milk in Turkey. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergosi, v. 16, p. S37-S40, 2010.

GULER, Z. Levels of 24 minerals in local goat milk, its strained yoghurt and salted yoghurt (tuzlu yogurt). Small Ruminant Research, v. 71, p. 130-137, 2006.

GULER, Z. e GURSOY-BALCI, A.C. Evaluation of volatile compounds and free fatty acids in set types yogurts made of ewes', goats' milk and their mixture using two different commercial starter cultures during refrigerated storage. Food Chemistry, v. 127, n. 3, p. 1065–1071, 2011.

GULER, Z. e PARK, Y. W. Characteristics of physico-chemical properties, volatile compounds and free fatty acid profiles of commercial set-type Turkish yoghurts. Open Journal of Animal Sciences, v.1, n. 1, p. 1-9, 2011.

GULER, Z., TASDELEN, A., SENOL, H. KERIMOGLU, N., TEMEL, U. The determination of volatile compounds in set-type yogurts using static headspace gas chromatographic method. GIDA, v. 34, n 3; p. 137-142, 2009.

GUZEL-SEYDIM, Z.B., A.C. SEYDIM, A.K. GREENE A.B. BODINE, A.B. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. Journal of Food Composition and Analysis, v. 13, n. 1, p. 35-43, 2000.

HALSTED, C.H. Dietary supplements and functional foods: 2 sides of a coin?. The American Journal Clinical Nutrition, v. 77, n. 4, p. 1001-1007, 2003.

HARAGUCHI, F.K.; ABREU, W.C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. Revista de Nutrição, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

HARRIS, D.C. Análise de Química Quantitativa. 6ª edição, Rio de Janeiro, Editora LTC, 2005.

IMHOF, R.; GLATTLI, H.; BOSSET, J. O. Volatile organic compounds produced by thermophilic and mesophilic single strain dairy starter cultures. LTW Food Science and Technology, v. 28, n. 1, p. 78‑86, 1995.

INCZEDY, J.; LENGYEL, T.; URE, A. M. Compendium of Analytical Nomenclature. Definitive Rules 1997, "The Orange Book", 3rd ed., Blackwell Science: Oxford, 1998.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Versão Digital, Washington, Editora National Academy Press, 1997.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate. Versão Digital, Washington, Editora National Academy Press, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo, Versão Eletrônica. 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Aquisição Alimentar Domiciliar Per Capta – Brasil e Grandes Regiões. http://www.ibge.com.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/pof20082009_aquisicao.pdf. Acesso em: 19 ago. 2014.

JARDIM, F.B.B., SANTOS, E.N.F, ROSSI, D.A., MELO, R.T., MIGUEL, D.P. ROSSI, E.A., SYLOS, C.M. Desenvolvimento de bebida láctea potencialmente probiótica carbonatada: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 23, n. 2, p. 275-286, 2012.

KIRA, C.S. e MAIHARA, V.A. Determination of major and minor elements in dairy products through inductively coupled plasma optical emission spectrometry after wet partial digestion and neutron activation analysis. Food Chemistry, v. 100, n. 1, p. 390-395, 2007.

KIRA, C.S. e MAIHARA, V.A. Determinação de elementos maiores e traço em queijos por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido após digestão parcial. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 27, n. 3, p. 446-450, 2007.

KIRA, C.S. Estudo da composição mineral e dos elementos-traço essenciais em amostras de leite e produtos lácteos por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido e análise por ativação com nêutrons. Dissertação de Mestrado, Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, São Paulo, 2002.

KLEIBEUKER, J. Whey, the way of innovation in the dairy sector. International Dairy Magazine, Madison, v. 9, n. 15, p. 30-31, 2009.

KRISSANSEN, G. W. Emerging health properties of whey proteins and their clinical implications. Journal of the American College of Nutrition, v. 26, n. 6, p. 713-723, 2007.

KUIPERS, W. e MULLER, J. Characterization of a microelectromechanical systems-based counter-current flame ionization detector. Journal of Chromatography A, v. 1218, n. 14, p. 1891-1898, 2011.

LAZZARINI, C., Estabilização de iogurte e bebida láctea fermentada. Leite & Derivados, v. 18, n. 111, p. 82-87, 2009.

LERAYER, A.L.S., MIGUEL, A.M.R.O., GUEDES, A.L.A., CARVALHO, A.F., ITAJDENWURCEL, J.R., FONSECA, L.M., MOSQUIM, M.C.A., NUTTI, M.R., SIMÃO FILHO, P., BRANDÃO, S.C.C., PORFÍRIO, T.A. Nova legislação comentada de produtos lácteos revisada e ampliada. Revista Indústria de Alimentos, 2002.

LERNER, B.R, LEI, D.L.M., CHAVES, S.P., FREIRE, R.D. O cálcio consumido por adolescentes de escolas públicas de Osasco, São Paulo. Revista de Nutrição, v.13, n. 1, p. 57-63, 2000.

LIMA, F.E.L., MENEZES, T.N., TAVARES, M.P., SZARFARC, S.C, FISBERG, R.M. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. Revista de Nutrição, v.13, n. 2, p. 73-80, 2000.

LIMA, L.L.A.; SCHULER, A.; GUERRA, N.B., PEREIRA, G.E; LIMA,T.L.A.; ROCHA, H. Otimização e validação de método para determinação de ácidos orgânicos em vinhos por cromatografia líquida de alta eficiência. Química Nova, v. 33, n. 5, p. 1186-1189, 2010.

LIMA, S.M.C.G.; MADUREIRA, F.C.P.; PENNA, A.L.B. Bebidas lácteas: nutritivas e refrescantes. Milkbizz Tecnologia Industrial, v. 1, n. 3, p. 4-11, 2002.

LIN H, BOYLSTON TD, LUEDECKE LO, SHULTZ TD. Conjugated linoleic acid content of Cheddar-type cheeses as affected by processing. Journal of Food Science, v. 64, n. 5, p. 874-878, 1999

LUCEY, J.A. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. International Journal of Dairy Technology, v. 57, n. 2-3, p. 77-84, 2004.

MACEDO, E.M.C.; AMORIM, M.A.F.; SILVA, A.C.S.; CASTRO, C.M.M.B. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças com desnutrição grave. Revista Paulista de Pediatria, v. 28, n. 3, p. 329-336, 2010.

MAGALHÃES, K.T.; DRAGONE,G.; PEREIRA, G.V.M.; OLIVEIRA, J.M; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J.A.; SILVA, J.B.A.; SCHWANA, R.F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. Food Chemistry, v.126, n. 1, p. 249-253, 2011.

MAGENIS, R.B., PRUDÊNCIO, E.S., AMBONI, R.D.M.C., JÚNIOR, N.G.C, OLIVEIRA, R.V.B.O, SOLDI, S., BENEDET, H.D. Compositional and physical properties of yogurts manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. International Journal of Food Science & Technology, v. 41, n. 5, p. 560-568, 2006.

MARTINS, L.S.P. Monitoramento da produção de ácidos orgânicos em amostras de leite fermentado pelos grãos e kefir e do tibet utilizando técnicas voltamétricas e HPLC. Tese de Doutorado, Quimica Analitica, Instituto de Química de São Carlos, 2006.

MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. Alternative Medicine, v. 9, n. 2, p. 136- 156, 2004.

MATTILA-SANDHOLM, T. Technological challenges for future probiotic foods. International Dairy Journal, v. 12, n. 2-3, p.173-182, 2002.

MCNAIR, H. M.; MILLER, J.M. Basic Gas Cromatography. 2ª edição, Editora Wiley, 1997.

MEDEIROS, T.C.; MOURA, A.S.; ARAÚJO, K.B. e AQUINO, L.C.L. Elaboração de iogurte de jaca: Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial. Scientia Plena, v. 7, n. 9, p. 1-4, 2011.

MERDIVAN, M., YILMAZ, E., HAMAMCI, C., & AYGUN, R. S. Basic nutrients and element contents of White cheese of Diyarbakır in Turkey. Food Chemistry, v. 87, n. 2, p.163 - 171, 2004.

MIGUEL, P.R, MARMITT, T., SCHLABITZ, C., HAUSCHILD, F.A.D., SOUZA, C.F.V. Desenvolvimento e caracterização de "iogurte" de soja sabor morango produzido com extrato de soja desengordurado enriquecido com cálcio. Alimentos e Nutrição, Araraquara, v.21, n.1, p. 57-63, 2010.

MORGANO, M.A.; QUEIROZ, S.C.N.; FERREIRA, M.M.C. Determinação dos teores de minerais em sucos de frutas por espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.19, n.3, p. 344-348, 1999.

NAVARRO-ALARCON, M.; CABRERA-VIQUE, C.; RUIZ-LÓPEZ, M.D.; OLALLA, M.; ARTACHO, R.; GIMÉNEZ, R.; QUINTANA, V.; BERGILLOS, T. Levels of Se, Zn, Mg and Ca in comercial goat and cow milk fermented products: Relationship with their chemical composition and probiotic starter culture. Food Chemistry, v. 129, p. 1126-1131, 2011.

NIELSEN. The Nielsen Company.Consumidores brasileiros buscam categorias que tragam benefícios a sua vida. Disponível em: <http://www.nielsen.com/br/pt/nielsen-pressroom/2012/consumidores-brasileiros-buscam-categorias-que-tragam-beneficios-a-sua-vida.html>. Acesso em: 05/08/2013.

NILSON E. A.F.; JAIME P.C.; RESENDE, D.O. Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados. Revista Panamericana de Salud Pública, v. 34, n. 4, p. 287–92, 2012.

OTT, A.; FAY, L.B.; CHAINTREAU, A. Determination and Origin of the Aroma Impact Compounds of Yogurt Flavor. Journal of Agricultural Food Chemistry, v. 45, n. 3, p. 850–858, 1997.

OZER, B.H. e KIRMACI, H.A. Functional milks and dairy beverages. International Journal of Dairy Technology, v. 63, n. 1, p. 1-15, 2010.

PADOVANI, R.M; AMAYA-FARFÁN, J.; COLUGNATI, F.A.B.; DOMENE, S.M.A. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. Revista de Nutrição, v. 19, n. 6, p. 741-760, 2006.

PANZIERA, F.B.; DORNELES, M.M.; PATRÍCIA CHAGAS DURGANTE, P.C.; SILVA, V.L. Avaliação da ingestão de minerais antioxidantes em idosos. Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia, v. 14, n. 1, p. 49-58, 2011.

PARANDINI, A.; SIGOLO, S.; TANSINI, G.; BROGNA, N.; PIVA, G. Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. Journal of Food composition and analysis, v. 20, n. 6, p. 472-479, 2007.

PARODI, P.W. Conjugated octadecanoic acids of milk fat. Journal of Daiary Science, v. 60, n. 10, p. 1550-1553, 1999.

PEREIRA, G.A.P., GENARO, P.S., PINHEIRO, M.M., SZEJNFELD, V.L., MARTINI, L.A. Cálcio dietético – estratégias para otimizar o consumo. Revista Brasileira de Reumatologia, v. 49, n. 2, p. 164-180 , 2009.

PFLANZER S.B, CRUZ, A.G., HATANAKA, C.L., MAMEDE, P.L., CADENA, R., FARIA, J.A.F. M.A.A.P. Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n. 2, p. 391-398, 2010.

PINTO, S.M.; CLEMENTE, M.G.; ABREU, L.R. Behaviour of volatile compounds during the shelf life of Yoghurt. International Journal of Dairy Technology, v. 62, n. 2, p. 215–223, 2009.

QIU, S.; XIE, L.; GAO, S.; LIU, Q.; LIN, Z.; QIU, B.; CHEN, G. Determination of cooper (II) in the dairy product by an electrochemical sensor based on click chemistry. Analytica Chimica Acta, v. 707, n. 1-2, p. 57-61, 2011.

QUEIROGA, R.C.R.E., COSTA, R.G., BISCONTINI, T.M.B., MEDEIROS, A.N.M., MADRUGA, M.S., SCHULER, A.R.P. Influencia do manejo do rebanho, das condições higiênicas da ordenha e da fase de lactação na composição química do leite da cabras Saanen. Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.2, p.430-437, 2007.

QUEIROZ, S.C.N; COLLINS, C.H e JARDIM, I.C.S.F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. Química Nova, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

RAFFERTY, K. e HEANEY, R.P. Nutrient effects on the calcium economy: emphasizing the potassium controversy. The Journal of Nutrition, v.138, n. 1, p. 166S-171S, 2008.

RESSINETTI PEDRO, N. A.; OLIVEIRA, E.; FILLI, S. P.; PORFIRIO, D.M. Estudo do conteúdo mineral de iogurtes naturais e com sabor de frutas, comercializados na cidade de São Paulo. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, v. 51, n. 2, p. 210-215, 2001.

ROBERT, N.F. Dossiê Técnico - Fabricação de iogurtes Noely. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro REDETEC, 2008.

ROUTRY, W. e MISHA, H.N. Scientific and Technical Aspects of Yogurt Aroma and Taste: A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v.10, n. 4, p.208-220, 2011.

SACCARO, D.M. Efeito da associação de cultura iniciadoras e probióticas na acidificação, textura e viabilidade em leite fermentado. Dissertação de Pós graduação, Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de São Paulo, 2008.

SAILAS, B. e FRIEDRICH, S. Conjugated linoleic acids as functional food: Na insight into their health benefits, a Review. Nutrition and Metabolism, v. 6, n. 36, 2009.

SANTO, A.P.E.; SILVA, R.C.; SOARES, F.A.S.M; ANJOS, D.; GIOIELLI, L.A.; OLIVEIRA, M.N. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. International Dairy Journal, v. 20, n. 6, p. 415–422, 2010.

SANTOS R.D; GAGLIARDI A.C.M., XAVIER H.T., MAGNONI C.D., CASSANI R ., LOTTENBERG A.M.P., CASELLA FILHO A., ARAÚJO D.B., CESENA F.Y., ALVES R.J., FENELON G., NISHIOKA S.A.D., FALUDI A.A., GELONEZE B., SCHERR C., KOVACS C., TOMAZZELA C., CARLA C., BARRERA-ARELLANO D., CINTRA D., QUINTÃO E., NAKANDAKARE E.R., FONSECA F.A.H., PIMENTEL I., SANTOS J.E., BERTOLAMI M.C., ROGERO M., IZAR M.C., NAKASATO M., DAMASCENO N.R.T.,

MARANHÃO R., CASSANI R.S.L., PERIM R., RAMOS S. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 100, n. 1, p.1-40, 2013.

SEMEDO, M.F.F.R. Importância médico-legal dos metais essenciais: cobre e zinco. Dissertação de Mestrado, Medicina Legal, Universidade do Porto, 2014.

SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL. Iogurte, Bebidas Lácteas e Doce de leite - Produção de derivados do leite, p. 36. http://ead.senar.org.br/cartilhas/138_Iorgurte.pdf. Acessado em 31 março 2015.

SERAFEIMIDOU, A., ZLATANOS, S., KRITIKOS, L., SAGREDOS, A. Chemical characteristics, fatty acid composition and conjugated linoleic acid (CLA) content of traditional Greek yogurts. Food Chemistry, v. 134, n. 4, p.1839–1846, 2012.

SERAFEIMIDOU, A., ZLATANOS, S., KRITIKOS G., TOURIANIS, A. Change of fatty acid profile, including conjugated linoleic acid (CLA) content, during refrigerated storage of yogurt made of cow and sheep milk. Journal of Food Composition and Analysis, v. 31, n. 1, p. 24–30, 2013.

SFAKIANAKIS, P. E TZIA, C. Conventional and Innovative Processing of Milk for Yogurt Manufacture; Development of Texture and Flavor: A Review. Foods, v. 3, n. 1, p. 176-193, 2014.

SHANTHA, N.C., RAM, L.N., O'LEARY, J., HICKS, C.L., DECKER, E.A. Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. Journal Food Science, v. 60, n. 4, p. 695-697, 1995.

SILVA, S.V. Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico. Dissertação de Mestrado, Ciência e Tecnologia dos Alimentos, UFSM, 2007.

SIQUEIRA, A.M.O.; MACHADO, E.C.L.; STAMFORD, T.L.M. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. Ciência Rural, v. 43, n. 9, p. 1693-1700, 2013.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S. R. Princípios de Análise Instrumental. 6ª edição, Porto Alegre, Editora Bookman, 2009.

SMID, E.J. e KLEEREBEZEM, M. Production of Aroma Compounds in Lactic Fermentations. Annual Reviews Food Science Technology, v. 5, p. 313–26. 2014.

SOARES, D.S.; FAI, A.E.C.; OLIVEIRA, A.M.; PIRES, E.M.F.; STAMFORD, T.L.M. Aproveitamento de soro de queijo para produção de iogurte probiótico. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 63, n. 4, p.996-1002, 2011.

SUÁREZ-MAHECHA, H.; FRANCISCO, A.; BEIRÃO, L.H.; BLOCK, J.M.; SACCOL, A.; PARDO-CARRASCO, S. Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 101 - 110, 2002.

TAMIME, A. Y. e ROBINSON R.K. Tamime and Robinson`s Yoghurt Science and Technology. 3ª edição, Editora CRC Press, 2007.

TAMIME, A. Y., Fermented milks: a historical food with modern applications - a review. European Journal of Clinical Nutrition, v. 56, n. 4, p. S2–S15, 2002.

TAMIME, A.Y. e ROBINSON R.K. Yoghurt: Science and Technology. Food Science and Technology. 2ª edição, Editora CRC Press, 1999.

TANELO, A.C. Perfil de compostos voláteis e propriedades físicas e químicas de iogurte probiótico mantido sob refrigeração. Dissertação de Mestrado, Ciência de Alimentos, Florianópolis, 2011.

TEIXEIRA, A. C. P.; MOURTHÉ, K.; ALEXANDRE, D. P.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M. Qualidade do Iogurte Comercializado em Belo Horizonte. Leite & Derivados, v. 1, n. 51, p. 32-39, 2000.

THAMER, K.G. e PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas porprobióticos e acrescidas de prebiótico. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

TORMO, M. e IZCO, J.M. Alternative reversed-phase high-performance liquid chromatography method to analyse organic acids in dairy products. Journal of Chromatography A, v. 1033, n. 2, p. 305-310, 2004.

TORRES, E.A.F.S.; CAMPOS, N.C.; DUARTE, M.; GARBELOTTI, M.L.; PHILIPPI, S.T.; RODRIGUES, R.S.M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. Food Science and Technology, v. 20, n. 2, p. 145-150, 2000.

UMBELINO, D. C., ROSSI, E. A., CARDELLO, H. M. A. B., LEPERA, J. S. Aspectos tecnológicos e sensoriais do “iogurte” de soja enriquecido com cálcio. Ciência e Tecnologia, v. 21, n. 3, p. 276-280, 2001.

URBIENĖ, S., LESKAUSKAITĖ, D. Formation of some organic acids during fermentation of milk. Polish journal of food and nutrition sciences, v. 15-56, n. 3, p. 277–281, 2006.

VAHCIC N e HRUSKAR M. Slovenian fermented milk with probiotics. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Kmetijstvo. Zootehnika, v. 76, n. 2, p.41–6, 2000.

VALENZUELA A.B. e NIETO S.K. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal:.suimportância em el desarrolo.delsistema nervioso y visual. Revista Chilena de Pediatría, v. 74, n. 2, p. 149-57, 2003.

VAN DEN DOOL, H. e KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas–liquid partition chromatography. Journal of Chromatography, v. 11, p. 463–471, 1963.

VIEGAS, M.C. e BASSOLI, D.G. Utilização do índice de retenção linear para caracterização de compostos voláteis em café solúvel utilizando CG-MS e coluna hp-innowax. Quimica Nova, v. 30, n. 8, p. 2031-2034, 2007.

VISENTAINER, J.V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. Quimica Nova, v. 35, n. 2, p. 274-279, 2012.

WEBB, D.; DONOVAN, S.M. & MEYDANI, S.N. The role of Yogurt in improving the quality of the American diet and meeting dietary guidelines. Nutrition Reviews, n. 72, v. 3, p. 180–189, 2014.

WONG, N.P.; LACROIX, D.E.; MCDONOUGH, F.E. Minerals in whey and whey fractions. Journal of Dairy Science, v. 61, n. 12, p.1700-1703, 1978.

YALCIN, A. S. Emerging therapeutic potential of whey proteins and peptides. Current Pharmaceutical Design, Haydarpasa-Istanbul, v. 12, n. 13, p. 1637-1643, 2006.

YILDIZ, F. Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products. E Book, Editora CRC Press, EUA, 2010.

ZOURARI, A., ACCOLAS, J.P., DESMAZEAUD, M.J. Metabolism and biochemical characteristics of yoghurt bacteria. A review: Lait, v. 72, n. 1, p. 1-34, 1992.

ANEXOS

ANEXO I

Valores obtidos nas análises de Composição Centesimal em triplicata do teor de umidade e proteína e duplicata do teor de lipídios.

Tabela 11 – Teor de umidade das amostras em triplicata

Umidade (% m m^{-1})							
Iogurte				Bebida Láctea			
Amostra	A1	A2	A3	Amostra	A1	A2	A3
1	80,72	80,77	80,51	1	85,61	85,57	85,52
2	80,82	80,95	80,41	2	80,52	80,70	80,72
3	79,68	79,54	79,81	3	78,58	78,47	78,50
4	78,12	78,07	78,18	4	80,26	80,20	80,23
5	79,21	79,28	79,23	5	84,76	84,51	84,82
6	77,73	77,70	77,66	6	85,01	85,08	85,14
7	88,24	88,22	88,21	7	82,16	82,13	82,09
8	89,45	89,12	89,03	8	80,54	80,52	80,51
9	90,44	88,24	89,45	9	90,45	90,34	90,38
10	78,17	78,17	78,33	10	82,99	83,11	83,12

Tabela 12 - Teor de proteínas das amostras em triplicata

Proteína (% m m^{-1})							
Iogurte				Bebida Láctea			
Amostra	A1	A2	A3	Amostra	A1	A2	A3
1	5,67	5,82	6,38	1	1,77	1,97	1,66
2	4,90	4,69	4,06	2	2,78	2,95	2,67
3	4,76	4,74	3,20	3	4,00	3,66	3,49
4	4,44	5,18	4,46	4	2,54	2,79	2,71
5	5,31	6,44	5,76	5	2,28	2,22	2,25
6	5,24	5,19	4,98	6	3,60	3,86	3,98
7	5,79	5,62	5,84	7	2,86	2,61	2,61
8	4,48	4,00	4,88	8	2,88	2,89	3,00
9	3,02	2,44	3,05	9	2,03	2,16	2,21
10	5,71	5,01	4,95	10	2,39	2,49	2,28

Tabela 13 - Teor de lipídios das amostras em duplicata

Lipídios (% g 100 mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	3,6	3,7	1	0,3	0,4
2	2,4	2,5	2	0,3	0,3
3	0,0	0,0	3	1,5	1,6
4	2,6	2,5	4	1,9	2,0
5	3,4	3,5	5	0,5	0,4
6	0,2	0,3	6	3,0	3,0
7	1,4	1,6	7	1,4	1,3
8	0,4	0,5	8	2,2	2,4
9	1,0	1,2	9	0,5	0,7
10	2,6	2,6	10	1,3	1,3

ANEXO II

Valores obtidos da análise de Minerais em duplicata.

Tabela 14 - Teor de cálcio das amostras em duplicata

Cálcio (mg g^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	1,26	1,27	1	0,85	0,90
2	1,24	1,25	2	0,81	0,87
3	1,21	1,21	3	1,08	1,09
4	1,15	1,29	4	1,10	1,11
5	1,55	1,84	5	2,06	2,02
6	1,41	1,59	6	1,13	1,19
7	2,18	2,04	7	0,97	0,94
8	1,09	1,13	8	0,89	0,87
9	0,74	0,82	9	0,99	1,01
10	1,44	1,60	10	0,80	0,82

Tabela 15 - Teor de ferro das amostras em duplicata

Ferro (mg g^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	0,005	0,003	1	0,004	0,005
2	0,008	0,007	2	0,004	0,003
3	0,002	0,004	3	0,009	0,003
4	0,002	0,006	4	0,010	0,013
5	0,000	0,011	5	0,005	0,009
6	0,013	0,000	6	0,006	0,004
7	0,006	0,006	7	0,005	0,004
8	0,002	0,005	8	0,004	0,004
9	0,003	0,013	9	0,009	0,006
10	0,010	0,018	10	0,007	0,005

Tabela 16 - Teor de potássio das amostras em duplicata

Potássio (mg g^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	1,69	1,69	1	1,15	1,17
2	1,51	1,53	2	1,50	1,55
3	1,62	1,60	3	1,38	1,40
4	1,45	1,57	4	1,32	1,33
5	1,92	1,93	5	1,30	1,33
6	1,84	1,93	6	1,78	1,78
7	1,84	1,73	7	1,64	1,62
8	1,47	1,46	8	1,24	1,26
9	0,85	0,92	9	1,16	1,16
10	1,67	1,70	10	1,60	1,58

Tabela 17 - Teor de potássio das amostras em duplicata

Magnésio (mg g^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	0,17	0,17	1	0,11	0,12
2	0,19	0,19	2	0,11	0,11
3	0,17	0,17	3	0,10	0,10
4	0,15	0,18	4	0,12	0,13
5	0,00	0,23	5	0,13	0,12
6	0,18	0,00	6	0,13	0,13
7	0,20	0,19	7	0,11	0,11
8	0,16	0,16	8	0,10	0,10
9	0,09	0,10	9	0,09	0,09
10	0,20	0,23	10	0,10	0,09

Tabela 18 - Teor de sódio das amostras em duplicata

Sódio (mg g^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	0,66	0,67	1	0,71	0,72
2	0,77	0,77	2	0,79	0,82
3	0,69	0,68	3	0,64	0,63
4	0,51	0,71	4	0,57	0,57
5	0,82	0,95	5	0,63	0,66
6	0,86	0,85	6	0,82	0,80
7	0,91	0,88	7	0,68	0,69
8	0,66	0,65	8	0,63	0,64
9	0,40	0,52	9	0,55	0,55
10	0,89	0,89	10	0,79	0,77

ANEXO III

Valores obtidos da análise de Ácidos Orgânicos em triplicata.

Tabela 19 - Teor de ácido cítrico das amostras em triplicata

Ácido Cítrico (mg mL^{-1})							
Iogurte				Bebida Láctea			
Amostra	A1	A2	A3	Amostra	A1	A2	A3
1	1,80	1,81	1,82	1	2,14	2,07	2,07
2	2,32	2,44	2,07	2	2,67	2,11	2,75
3	1,71	1,74	1,82	3	1,75	1,45	1,52
4	1,96	2,31	2,02	4	1,80	1,97	1,74
5	2,09	2,23	2,86	5	2,29	1,76	1,67
6	2,19	2,22	2,58	6	1,81	1,82	2,11
7	1,79	1,75	1,79	7	1,73	1,58	1,92
8	2,20	2,86	2,69	8	2,17	1,69	1,52
9	1,02	0,79	0,79	9	1,03	1,13	1,23
10	2,65	2,53	0,91	10	0,96	0,79	1,07

Tabela 20 - Teor de ácido lático das amostras em triplicata

Ácido Lático (mg mL^{-1})							
Iogurte				Bebida Láctea			
Amostra	A1	A2	A3	Amostra	A1	A2	A3
1	0,41	0,42	0,44	1	0,35	0,34	0,32
2	0,56	0,49	0,45	2	0,45	0,55	0,68
3	0,96	0,81	0,88	3	0,48	0,46	0,50
4	0,96	0,87	0,75	4	0,81	0,91	0,78
5	0,55	0,60	0,83	5	0,82	0,68	0,61
6	0,57	0,59	0,74	6	0,66	0,70	0,78
7	0,59	0,58	0,59	7	0,79	0,61	0,85
8	0,76	0,93	1,01	8	0,85	0,65	0,73
9	0,40	0,39	0,40	9	1,19	1,11	0,71
10	1,04	0,97	0,46	10	0,41	0,47	0,22

Tabela 21 - Teor de ácido fórmico das amostras em triplicata

Ácido Fórmico (mg mL-1)							
Iogurte				Bebida Láctea			
Amostra	A1	A2	A3	Amostra	A1	A2	A3
1	0,00	0,00	0,00	1	1,16	1,13	1,10
2	0,00	0,00	0,00	2	0,47	0,48	0,43
3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	4	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	5	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	6	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	7	0,00	0,00	0,00
8	0,00	0,00	0,00	8	0,00	0,00	0,00
9	0,00	0,00	0,00	9	0,00	0,00	0,00
10	0,00	0,00	0,00	10	1,37	1,30	0,00

Tabela 22 - Teor de ácido acético das amostras em triplicata

Ácido Acético (mg mL^{-1})							
Iogurte				Bebida Láctea			
Amostra	A1	A2	A3	Amostra	A1	A2	A3
1	0,00	0,00	0,00	1	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	2	0,00	0,00	0,00
3	0,00	0,00	0,00	3	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	4	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	5	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	6	0,00	0,00	0,00
7	8,71	10,45	10,28	7	0,00	0,00	0,00
8	1,92	2,25	2,43	8	0,00	0,00	0,00
9	5,08	2,88	2,89	9	1,87	1,91	2,11
10	13,96	13,64	5,08	10	3,44	2,80	5,02

ANEXO IV

Valores obtidos da análise de Ácidos Graxos em duplicata.

Tabela 23 - Teor de C4:0 das amostras em duplicata

C4:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	1,39	0,68	1	0,00 *	0,00 *
2	1,23	0,91	2	0,00 *	0,00 *
3	0,00	0,00	3	0,00 *	0,00 *
4	2,25	2,31	4	1,20	1,14
5	2,01	2,15	5	0,00 *	0,00 *
6	2,79	1,87	6	2,21	2,20
7	0,00 *	0,00 *	7	1,00	1,43
8	0,00 *	0,00 *	8	2,65	2,54
9	1,06	1,39	9	0,00 *	0,00 *
10	1,87	0,83	10	0,80	1,04

***Valores abaixo do limite de detecção**

Tabela 24 - Teor de C6:0 das amostras em duplicata

C6:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	1,41	0,73	1	0,00 *	0,00 *
2	1,14	1,12	2	0,00 *	0,00 *
3	0,00	0,00	3	0,00 *	0,00 *
4	2,01	1,82	4	1,21	1,14
5	1,98	2,13	5	0,00 *	0,00 *
6	2,04	1,35	6	1,92	1,91
7	0,00 *	0,00 *	7	0,99	1,24
8	0,00 *	0,00 *	8	2,07	2,36
9	1,03	1,30	9	0,72	0,73
10	1,58	0,91	10	0,00 *	0,00 *

***Valores abaixo do limite de detecção**

Tabela 25 - Teor de C8:0 das amostras em duplicata

C8:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	0,97	0,52	1	0,00 *	0,00 *
2	0,00	0,00	2	0,00 *	0,00 *
3	0,00 *	0,00 *	3	0,00 *	0,00 *
4	1,58	1,26	4	0,00 *	0,00 *
5	1,33	2,11	5	0,00 *	0,00 *
6	2,20	1,20	6	2,38	2,37
7	0,00 *	0,00 *	7	0,64	1,28
8	0,00 *	0,00 *	8	1,36	1,66
9	0,65	0,90	9	0,00 *	0,00 *
10	1,10	0,60	10	0,00 *	0,00 *

*Valores abaixo do limite de detecção

Tabela 26 - Teor de C10:0 das amostras em duplicata

C10:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	2,05	1,04	1	0,49	0,96
2	1,04	1,00	2	0,68	0,57
3	0,00	0,00	3	0,81	0,97
4	2,46	1,64	4	1,41	1,37
5	2,10	3,60	5	0,00 *	0,00 *
6	2,99	2,30	6	4,80	4,78
7	0,00 *	0,00 *	7	1,11	2,19
8	0,00 *	0,00 *	8	2,96	2,99
9	1,10	1,49	9	0,68	0,60
10	2,16	0,84	10	0,00 **	0,00 **

*Valores abaixo do limite de detecção; ** Valores a cima do limite de detecção

Tabela 27 - Teor de C12:0 das amostras em duplicata

C12:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	2,72	1,16	1	1,41	2,27
2	1,91	2,31	2	1,68	1,95
3	0,00	0,00	3	1,11	1,46
4	3,46	2,29	4	0,14	2,78
5	2,44	4,13	5	1,47	1,82
6	4,45	2,47	6	5,49	5,39
7	0,72	1,23	7	2,57	3,38
8	0,99	0,80	8	3,21	3,41
9	2,39	2,63	9	1,64	1,60
10	2,19	0,80	10	0,20	2,14

Tabela 28 - Teor de C14:0 das amostras em duplicata

C14:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	6,85	3,59	1	1,90	3,98
2	5,06	5,78	2	3,54	2,39
3	0,00	0,00	3	8,33	5,38
4	12,06	5,53	4	5,03	4,76
5	0,00 **	0,00 **	5	3,21	3,06
6	9,02	11,35	6	0,00 **	0,00 **
7	2,13	2,81	7	5,45	5,89
8	3,74	3,58	8	8,83	11,15
9	4,61	5,45	9	7,91	7,90
10	7,57	5,03	10	7,85	4,01

** Valores a cima do limite de detecção

Tabela 29 - Teor de C14:1n9 das amostras em duplicata

C14:1n9 (mg mL-1)					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	1,23	0,00	1	0,00	0,00
2	0,00	0,00	2	0,00	0,00
3	0,00	0,00	3	0,00	0,00
4	0,98	0,87	4	0,00	0,00
5	0,00	0,00	5	0,00	0,00
6	0,00	0,00	6	4,38	4,23
7	0,00	0,00	7	0,00	0,00
8	0,00	0,00	8	0,00	0,00
9	0,00	1,37	9	0,00	0,00
10	0,00	0,00	10	0,00	0,00

Tabela 30 - Teor de C15:1n10 das amostras em duplicata

C15:1n10 (mg mL-1)					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	9,26	6,86	1	0,00	1,93
2	0,00	0,00	2	0,00	0,00
3	0,00	0,00	3	0,00	0,00
4	1,14	0,00	4	3,45	4,02
5	0,00	0,00	5	0,00	0,00
6	0,00	0,00	6	0,00	0,00
7	0,00	0,00	7	1,37	2,66
8	0,00	0,00	8	0,00	0,00
9	2,34	0,97	9	0,00	0,00
10	0,00	0,00	10	1,43	0,02

Tabela 31 - Teor de C16:0 das amostras em duplicata

C16:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	13,51	7,16	1	0,00 **	0,00 **
2	0,00 **	0,00 **	2	0,00 **	0,00 **
3	0,00	0,00	3	7,70	7,43
4	0,00 **	0,00 **	4	8,97	8,42
5	0,00 **	0,00 **	5	4,16	5,10
6	0,00 **	0,00 **	6	0,00 **	0,00 **
7	3,22	4,72	7	0,00 **	0,00 **
8	6,80	4,94	8	0,00 **	0,00 **
9	9,52	10,33	9	5,49	5,48
10	23,16	6,48	10	4,67	7,43

** Valores a cima do limite de detecção

Tabela 32 - Teor de C16:1n9 das amostras em duplicata

C16:1n9 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	2,96	0,00	1	0,00	0,00
2	0,00	0,00	2	0,00	0,00
3	0,00	0,00	3	0,00	0,00
4	3,00	0,00	4	0,51	1,32
5	8,34	7,43	5	0,00	0,00
6	0,00	0,00	6	0,00	0,00
7	0,28	1,66	7	2,46	5,87
8	0,00	3,67	8	4,46	6,25
9	0,00	0,00	9	0,00	0,00
10	0,00	0,00	10	0,00	0,00

Tabela 33 - Teor de C18:0 das amostras em duplicata

C18:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	7,62	4,30	1	2,23	4,09
2	12,54	6,72	2	5,06	3,38
3	0,00	0,00	3	3,51	11,99
4	8,39	6,07	4	5,89	5,03
5	0,00 **	0,00 **	5	4,91	3,35
6	0,00 **	0,00 **	6	0,00 **	0,00 **
7	2,04	3,21	7	6,61	6,55
8	5,41	0,00	8	0,00 **	0,00 **
9	5,89	5,79	9	4,65	4,60
10	8,98	3,66	10	3,37	6,18

** Valores a cima do limite de detecção

Tabela 34 - Teor de C18:1n9 das amostras em duplicata

C18:1n9 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	10,85	5,01	1	0,00	0,00
2	12,19	9,33	2	4,70	3,73
3	0,00	0,00	3	0,00	5,47
4	29,31	9,45	4	6,91	6,48
5	0,00 **	0,00 **	5	0,00	0,00
6	0,00 **	0,00 **	6	0,00	0,00
7	1,99	2,92	7	6,87	9,34
8	5,53	2,65	8	0,00 **	0,00 **
9	6,12	7,45	9	3,45	3,33
10	19,49	3,83	10	3,66	5,34

** Valores a cima do limite de detecção

Tabela 35 - Teor de C18:2n6 das amostras em duplicata

C18:2n6 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	2,83	1,17	1	0,00	0,00
2	0,90	1,90	2	0,00	0,00
3	0,00	0,00	3	1,07	0,00
4	7,99	0,00	4	1,17	0,96
5	3,58	3,58	5	0,00 *	0,00 *
6	3,02	1,93	6	3,95	3,83
7	0,00 *	0,00 *	7	0,00	0,00
8	0,00 *	0,00 *	8	4,03	3,91
9	1,25	1,34	9	0,00	0,00
10	2,71	0,00	10	0,00	1,49

*Valores abaixo do limite de detecção

Tabela 36 - Teor de C18:3n3 das amostras em duplicata

C18:3n3 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	1,06	0,00	1	0,00	0,00
2	0,00	0,00	2	0,00	0,00
3	0,00	0,00	3	0,00	0,00
4	1,25	0,00	4	0,00	0,00
5	0,00	0,00	5	0,00	0,00
6	0,00	0,00	6	2,56	2,58
7	0,00 **	0,00 **	7	0,00	0,00
8	0,00	2,48	8	0,00	2,98
9	0,00	0,00	9	0,00	0,00
10	0,00	0,00	10	0,00	0,00

** Valores a cima do limite de detecção

Tabela 37 - Teor de C20:0 das amostras em duplicata

C20:0 (mg mL^{-1})					
Iogurte			Bebida Láctea		
Amostra	A1	A2	Amostra	A1	A2
1	0,00	0,00	1	0,00	0,00
2	0,00	0,00	2	0,00	0,00
3	0,00	0,00	3	0,00 **	0,00 **
4	0,00 **	0,00 **	4	0,00	0,00
5	0,00	0,00	5	0,00	0,00
6	0,00	0,00	6	0,00 **	0,00 **
7	0,00	0,00	7	0,00	0,00
8	0,00 **	0,00 **	8	1,00	1,08
9	0,00	0,00	9	0,00	0,00
10	0,00	0,00	10	0,00	0,00

** Valores a cima do limite de detecção

ANEXO V

Identificação dos voláteis presentes nas amostras.

Tabela 38 - Identificação dos voláteis nas amostras feita em duplicata

Identificação dos Voláteis																					
	Tr	IRL	Iogurte										Bebida Láctea								
Compostos	Amostras		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hidrazinocarboxamida	4,905	809	X						X	X	X	X		X	X	X	X				X	X
Octano	5,726	836													X							
Acetona	5,852	841							X	X					X	X	X	X	X		X	X
Tetrahidrofurano	6,497	862	X						X	X	X				X			X				X
3-metil furano	6,600	866	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X
Acetato de etila	6,849	874	X						X	X	X	X		X	X	X	X	X	X		X	X
Acetaldeído	6,895	877	X	X		X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	
Acetato de isopropila	7,030	880										X						X				
6,10-dimetil-5,9-dodecadien-2-ona	7,096	882	X						X	X		X			X		X					
Diclorometileno	7,589	899	X	X	X	X	X	X		X	X		X		X				X	X		X
Etanol	7,637	901	X						X	X	X	X		X	X	X	X	X	X		X	X
2,3-butanodiona	8,560	936	X						X	X		X		X	X	X		X			X	X
Pentanal	8,657	940																	X			
Butanoato de metila	8,765	944								X						X					X	
Acetonitrila	9,129	958	X						X	X				X	X	X	X		X			
Decano	9,247	962													X							
2-metil-butanoato de metila	9,307	965																				X

Identificação dos Voláteis																						
	Tr	IRL	Iogurte										Bebida Láctea									
Compostos	Amostras		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Triclorometano	9,489	971	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	x	X	X	X	X	X	X		X
Butanoato de etila	9,935	989	X						X	X	X	X		X	X	X	X	X	X		X	X
2-metil-butanoato de etila	10,322	1003	X						X	X	X			X	X		X	X			X	X
2,3-pentanodiona	10,452	1006																X				
3-metil-butanoato de etila	10,744	1015							X	X		X			X	X		X	X		X	
Hexanal	11,102	1026	X							X									X			
Dodecano	11,147	1027																			X	
1,3-Dioxolano	11,609	1041	X						X							X			X			
1-butanol, 3-metil-, acetato	12,176	1058												X	X				X			
Pentanoato de etila	12,664	1069									X	X		x				X				
Tolueno	12,769	1075				X	X	X														
2-heptanona	14,217	1114	X	X	X	X	X	X					X		X			X	X	X		X
Hexanoato de metila	14,278	1116								X												
Butanoato de Butila	15,397	1142												X								
2-hexenal	15,473	1143	X							X												
2-metil butanoato de butila	15,947	1154										X										
Hexanoato de etila	15,976	1149	X						X	X				X	X	X			X		X	X
Ácido butanóico, 3- éster metilbutílico	17,282	1185							X			X						X				
Acetato de hexila	17,791	1197								X	X	X				X		X			X	X
Acetoina	17,908	1200	X						X	X		X			X	X	X	X	X		X	
Ácido butanóico, 3-metil, 3-éster metilbutílico	18,467	1211										X		X								
3-Hexeno-1-ol, acetato	19,267	1226									X	X						X				
1,3-dioxolano, 4-metil-2-pentil	19,267	1233							X	X		X			X		X	X			X	X
Heptanoato de etila	20,082	1242																				X

Identificação dos Voláteis																						
	Tr	IRL	Iogurte										Bebida Láctea									
Compostos	Amostras		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1-hexanol	20,890	1258																				X
3-hexeno-1-ol	22,258	1284							X	X	X	X		X	X	X	X	X	X		X	
2-propanona, 1-hidroxi	22,323	1286				X		X					X									
2-nonanona	22,653	1292	X	X	X	X	X	X					X							X		
Acetato de amônio	25,564	1346	X		X			X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X		X	X
Acetoacetato de etila	25,670	1348															X					
Benzaldeído	29,288	1412															X	X			X	
Ácido acético	29,759	1421		X		X	X													X		
3,7-dimetil-1,6-Octadien-3-ol	30,368	1433								X												
Furfural	30,477	1435		X	X	X	X	X					X							X		
Ácido propanóico, 2-(aminoxi)	34,728	1531										X										
Ácido butanóico	34,744	1531	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X		
2-ácido octinoico , éster metílico	35,879	1583										X										
2-furanometanol	36,267	1602		X	X	X	X	X				X	X							X		
Hexanoato de 3-hexenila	36,539	1625																				
Benzoato de etila	36,840	1650														X						
Oxi acetato de metila	36,942	1658								X												
Ácido 2-metil-butanóico	36,966	1660												X			X				X	
2-undecanona	38,477	1829		X		X	X						X									
Ácido acético, éster fenilmetílico	39,999	2096								X												X