

QUANTIFICAÇÃO E PORCENTAGEM DE RECUPERAÇÃO DE LUTEÍNA ADICIONADA NA FABRICAÇÃO DE QUEIJO PRATO ESFÉRICO

Quantification and recovery percentage of lutein added in the manufacture of spherical Prato cheese

Denise Sobral^{1}, Renata Golin Bueno Costa¹, Vanessa Aglaê Martins Teodoro¹, Gisela de Magalhães Machado Moreira¹, Junio César Jacinto de Paula¹, Talita Oka Novaes¹*

RESUMO

A fabricação do queijo Prato esférico com a utilização de luteína, um corante de cor amarela e com atributos benéficos à saúde, pode vir a ser uma alternativa para a prevenção de doenças relacionadas à idade como a degeneração macular e a catarata. O objetivo deste trabalho foi fabricar o queijo Prato esférico utilizando leite enriquecido com luteína em 2 diferentes concentrações e estudar a sua distribuição entre o soro e o queijo fabricado. A porcentagem de retenção de luteína no queijo tanto para a maior concentração de luteína utilizada (tratamento 32 mg/L), quanto para a menor concentração (16 mg/L) foi de aproximadamente 30%, comprovando que grande parte da luteína adicionada ao leite é perdida no soro durante a fabricação do queijo Prato esférico. Para atingir a porção mínima diária de 6mg de luteína, quantidade indispensável para evitar a degeneração macular, seria necessário que consumidor ingerisse aproximadamente 100 gramas do queijo do tratamento 32 mg/L ou 185g do queijo do tratamento 16 mg/L. Pesquisas futuras devem ser realizadas na busca de aumentar a taxa de retenção de luteína no queijo.

Palavras-chave: corante; saúde; retenção.

ABSTRACT

The manufacturing of spherical Prato cheese with lutein, a yellow dye, with beneficial health attributes, can be an alternative for the prevention of age-related diseases such as macular degeneration and cataracts. The aim of this study was to

1 Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Instituto de Laticínios Cândido Tostes (EPAMIG/ILCT), Rua Tenente Luiz de Freitas, 116, 36045-560, Juiz de Fora, MG, Brasil. E-mail: denisesobral@epamig.br

* Autor para correspondência.

Recebido / Received: 30/06/2014

Aprovado / Approved: 03/10/2014

manufacture the cheese using milk enriched with lutein in 2 different concentrations and to study its partition between whey and cheese during manufacture. The percentage retention of lutein in cheese for both the highest concentration of lutein used (treatment 32 mg/L), and for the lowest concentration (16 mg/L) was approximately 30%, demonstrating that most of lutein added to milk is lost in the whey during the cheese manufacturing. To reach the minimum daily serving of 6mg of lutein in a cheese slice, ie, the minimum amount necessary to prevent macular degeneration, it is necessary that consumers ingest about 100 grams of cheese treatment 32 mg/L or 185g of cheese treatment 16 mg/L. Future research should be conducted in order to increase the percentage of retention of lutein in cheese.

Keywords: dye; health; retention.

INTRODUÇÃO

A luteína é um dos principais pigmentos maculares contido na retina humana, sendo responsável por duas funções fundamentais: proteger a mácula contra o estresse oxidativo (função antioxidante) e filtrar a luz azul de alta energia, melhorando a acuidade visual (ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, 2005). Por meio desses mecanismos, acredita-se que luteína possa contribuir para a diminuição do risco de ocorrência de catarata e de degeneração macular relacionada à idade (AHMED, et al., 2005).

A degeneração macular relacionada à idade (AMD) é a principal causa de perda de visão irreversível na população de idade avançada nos EUA e no mundo Ocidental. Estima-se que 1,6% da população entre 50 e 65 anos de idade seja afetada por esta doença, aumentando para 30% no grupo de indivíduos com idade acima dos 75 anos (KLEIN et al., 1997). Como a proporção de idosos na população brasileira aumentou, assim como a expectativa de vida, o impacto da AMD na saúde pública tende a se tornar mais severo (MOZZAFARIEH et al., 2003), sendo necessários estudos e ações que previnam esta doença.

Como a luteína não é sintetizada pelo organismo humano, é necessário que seja suprida por meio da alimentação (DAVIES;

MORLAND, 2004). Estudos (HAMMOND et al., 1997; BERENDSCHOT et al., 2000; BONE et al., 2003; KOH et al., 2004) mostram que a suplementação da dieta com alimentos ricos em carotenóides (especialmente a luteína) tem a capacidade de aumentar a concentração e a densidade deste pigmento macular. De acordo com Krinsky et al. (2003), *Alternative Medicine Review* (2005), Krinsky; Johnson (2005), a ingestão de luteína (6 a 20 mg/dia) está associada com a redução na incidência de degeneração macular, bem como na redução de catarata. Seddon et al. (1994) sugeriram que 6 mg de luteína por um dia pode reduzir o risco de degeneração macular em até 43%.

Segundo diversos estudos, a dose mínima para que a luteína tenha efeitos benéficos à saúde é de 6mg diárias (KRINSKY, et al., 2003; ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, 2005; KRINSKY; JOHNSON, 2005; STRINGHETA et al., 2006). Esta concentração é equivalente ao consumo de 2 tigelas de espinafre ou uma tigela de salada de couve por dia, o que torna um hábito praticamente impossível para a maioria das pessoas.

Os queijos são alimentos versáteis e agradam a muitos paladares. Além de nutritivos, ricos em proteína, gordura, cálcio e fósforo, podem ser utilizados para consumo direto, à mesa, ou como ingrediente. Essa

versatilidade oferece estratégias que o fazem com grande potencial para veicular substâncias benéficas à saúde, como a luteína. O Prato é um dos queijos mais consumidos no Brasil (ABIQ, 2012) o que leva a crer que esteja inserido na alimentação diária de grande parte da população brasileira. A luteína é um pigmento de cor amarela, podendo substituir o corante urucum, utilizado na fabricação de queijo Prato. Em um estudo realizado por Bastos e colaboradores (2013) verificou-se que o queijo Prato é bem aceito pelos consumidores devido a suas características sensoriais desejáveis e também à facilidade de ser encontrado no comércio. Sendo assim, o queijo Prato esférico adicionado de luteína pode ser um excelente veiculador deste carotenóide, enriquecendo a dieta da população, sem modificar seus hábitos alimentares e prevenindo doenças.

Estudos sobre a cifra de transição de substâncias bioativas na fabricação de queijos são muito importantes para determinar exatamente quanto do produto adicionado ao leite é perdido no soro e quanto será aproveitado no queijo. No caso da luteína, a análise de sua recuperação no queijo se faz necessária não somente em termos nutricionais, mas também econômicos, pois se trata de um ingrediente de custo elevado (KUBO et al., 2013).

Diante do contexto, o objetivo deste trabalho foi fabricar queijos Prato coloridos com luteína e avaliar a taxa de transição deste corante para o queijo.

MATERIAL E MÉTODOS

Fabricação do queijo e análises de composição centesimal do leite, soro e queijo

As fabricações dos queijos e as análises físico-químicas foram realizadas na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Instituto de Laticínios Cândido Tostes – EPAMIG/ILCT, em Juiz de Fora – MG. O corante luteína utilizado foi fornecido pela

DSM Nutritional Products, na forma de pó, solúvel em água, na cor amarela, contendo 5% luteína, além de outros componentes (amido modificado, xarope de glicose, dl- α -tocoferol e ascorbato de sódio).

Foram realizados três tratamentos e 3 repetições sendo: tratamento 32 mg/L (queijo Prato esférico fabricado com 0,64 g de corante luteína comercial para cada litro de leite – o que corresponde a 32 mg de luteína pura por litro de leite), tratamento 16 mg/L (queijo Prato esférico fabricado com 0,32 g de corante luteína comercial para cada litro de leite – o que corresponde a 16 mg de luteína pura por litro de leite), tratamento controle (queijo Prato esférico fabricado sem luteína).

Os queijos foram fabricados de acordo com a metodologia adaptada de Lourenço Neto (2013) (Figura 1). O leite proveniente do mesmo lote foi padronizado, pasteurizado (65 °C por 30 minutos) e em seguida as amostras foram coletadas para as análises. Após homogeneização com um agitador, foi dividido em três porções, para em seguida dar início à fabricação dos queijos com três tratamentos. Foi utilizado fermento mesofílico contendo as bactérias *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* – R704 (Chr. Hansen Brazil, Valinhos, Brasil) (metade da dose recomendada pelo fabricante) e fermento aromático contendo as bactérias *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* – CHN 22 (Chr. Hansen Brasil, Valinhos, Brasil) (metade da dose recomendada pelo fabricante). O coagulante utilizado foi o CHY-MAX – Chr. Hansen Brasil, na dose recomendada pelo fabricante.

No leite foram realizadas análises de teores percentuais de sólidos totais, gordura, densidade, crioscopia e acidez titulável com solução de hidróxido de sódio 0,111N (BRASIL, 2006). Os teores percentuais de

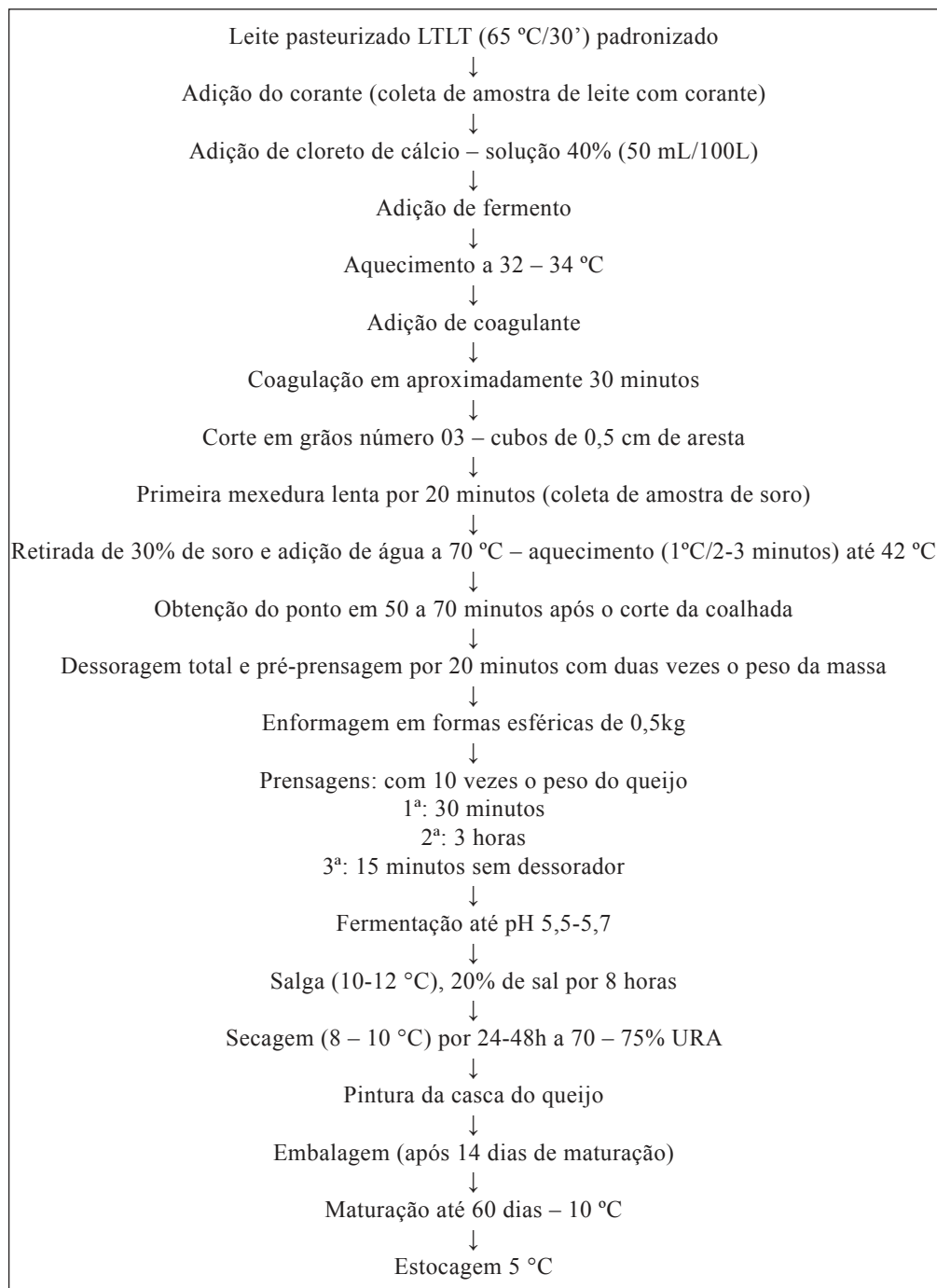


Figura 1 – Fluxograma da fabricação do queijo Prato esférico com adição de luteína

nitrogênio total foram obtidos pelo método Kjeldahl (PEREIRA, 2001), para se calcular o teor percentual de proteína com base no teor de nitrogênio total. O fator utilizado foi 6,38. No soro foram realizadas as mesmas análises do leite, porém não foi realizada a crioscopia e foi feita análise de pH (BRASIL, 2006). As amostras de leite foram coletadas no início da fabricação, antes da adição de qualquer ingrediente, que não fosse o corante. As amostras de soro foram coletadas ao final da primeira mexedura, antes da lavagem da massa.

Nas análises físico-químicas dos queijos, o preparo das amostras foi realizado segundo Brasil (2006). Os queijos foram analisados depois da salga. Foram realizadas análises de pH, teores percentuais de sólidos totais, gordura e resíduo mineral fixo (RMF) (BRASIL, 2006). Os teores percentuais de nitrogênio total foram obtidos pelo método Kjeldahl (PEREIRA, 2001), para se calcular o teor percentual de proteína com base no teor de nitrogênio total. O fator utilizado foi 6,38. Foi calculado o teor de gordura no extrato seco (GES) que se trata da relação do teor de gordura do queijo, dividido por seu percentual de sólidos totais. A atividade de água (a_w) foi realizada utilizando-se medidor digital Aqualab modelo CX2T – Decagon Devices, Inc., Washington, USA, utilizando-se amostras coletadas em toda extensão dos queijos e conforme instruções do fabricante do equipamento.

Recuperação da luteína e quantificação da luteína no leite, no soro e nos queijos

A recuperação da luteína foi realizada segundo metodologia utilizada por Kubo et al. (2013), onde a porcentagem de recuperação de luteína (% R) foi calculada como peso do queijo ou soro multiplicado pela suas respectivas porcentagens de luteína e dividido pelo peso total de leite multiplicado pelo seu percentual de luteína com o total deste

resultado multiplicado por 100, de acordo com a Equação 1:

$$\% R = \frac{(\text{massa do soro ou queijo} \times \% \text{ luteína})}{(\text{massa do leite} \times \% \text{ luteína})} \times 100 \quad (1)$$

As análises de quantificação de luteína foram realizadas segundo metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001), pelo laboratório de corantes naturais e compostos bioativos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.

Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando o programa SISVAR 4.1 (FERREIRA, 2000). As diferenças entre as médias foram analisadas pela primeiramente por ANOVA seguida pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição do leite

A média dos resultados referente às análises físico-químicas realizadas nas amostras de leite coletadas nas três repetições é apresentada na Tabela 1.

De acordo com os resultados, Tabela 1, verificou-se que o leite utilizado nas 3 três repetições deste estudo estava apto para a fabricação dos queijos, apresentando médias de acidez, crioscopia e densidade nos limites adequados da IN 62 (BRASIL, 2011).

Composição do soro

A média dos resultados referente às análises físico-químicas realizadas nas amostras de soro dos tratamentos 32 mg/L, 16 mg/L e controle é apresentada na Tabela 2.

A análise de composição demonstrou que não houve diferença entre os tratamentos em relação à composição físico-química do soro. Em um estudo realizado por Paula e

colaboradores (2012) a composição média de sólidos totais de soro de queijo de coalho foi de 7,87% (m/m), gordura 0,78% (m/m) e de proteína 1,04% (m/m) valores similares ao do atual estudo.

Já Pinto e colaboradores (2011) encontraram a composição de 0,4% de gordura, 0,78% de proteína e 6,19% de sólidos totais em soro de queijo Prato, resultados inferiores ao do presente estudo.

Variações na composição do soro podem ocorrer devido à distinta composição do leite utilizado e também devido à diferença de

tecnologias utilizadas para a fabricação de cada tipo de queijo.

Composição do queijo Prato esférico fabricado com e sem luteína

A composição físico-química dos queijos Prato esféricos fabricados com luteína (32 mg/L e 16 mg/L) e sem luteína (controle) está apresentada na Tabela 3.

Os resultados apresentados na Tabela 3 demonstram que não houve variação entre a composição dos queijos fabricados com e

Tabela 1 – Composição físico-química média do leite utilizado nas fabricações de queijo Prato esférico com e sem luteína

Análises	Média*
Gordura (% m/v)	4,15 ± 0,66
Nitrogênio total (% m/v)	0,49 ± 0,05
Proteína bruta (% m/v)	3,15 ± 0,35
Densidade a 15°C (g/L)	1030,7 ± 0,42
Acidez (g ác. láctico/100 mL)	0,170 ± 0,002
Crioscopia (DPC** °H)	0,539 ± 0,00
Sólidos Totais (% m/m)	12,38 ± 0,79
Umidade (% m/m)	87,62 ± 0,79

* Média de 3 repetições.

** Depressão do ponto de congelamento.

Tabela 2 – Composição físico-química média do soro das fabricações de queijo Prato esférico fabricado com 2 concentrações diferentes de luteína e tratamento controle

Análises	32 mg/L	16 mg/L	Controle
Gordura (% m/v)	0,53 ^a	0,70 ^a	0,62 ^a
Nitrogênio total (% m/v)	0,15 ^a	0,16 ^a	0,15 ^a
Proteína bruta (% m/v)	0,95 ^a	1,02 ^a	0,98 ^a
Densidade a 15°C (g/L)	1027,3 ^a	1027,7 ^a	1027,5 ^a
Acidez (g ác. láctico/100 mL)	0,07 ^a	0,09 ^a	0,08 ^a
pH	6,44 ^a	6,47 ^a	6,46 ^a
Sólidos Totais (% m/m)	6,98 ^a	7,05 ^a	7,01 ^a
Umidade (% m/m)	93,02 ^a	92,95 ^a	92,99 ^a

* Médias seguidas pela mesma letra numa mesma linha não diferem entre si ($p \geq 0,05$), pelo teste de Tukey.

sem luteína e que os queijos dos 3 tratamentos estão de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 1996).

Os teores de GES encontrados nos queijos variaram de 56,89% a 58,07% (Tabela 3), classificando esses queijos como gordos segundo regulamento técnico específico (BRASIL, 1996). Quanto à umidade, os teores dos queijos Prato fabricados variaram entre 45,51% a 45,67% classificando-os como queijos de média umidade. Este resultado demonstra que os queijos fabricados encontram-se dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira que são de 45 a 59,9% para GES e de 36 a 45,9% para os teores de umidade (BRASIL, 1996). Os teores de GES e umidade também foram semelhantes ao estudo realizado por KUBO e colaboradores (2013), no qual queijos Prato fabricados com luteína apresentaram valores de GES entre

57 e 59,2% e umidade entre 46,42 e 44,86%.

Quantificação da luteína e recuperação da luteína no leite, no soro e nos queijos

As médias das concentrações de luteína encontradas no leite, soro e queijo, para as diferentes concentrações de luteína adicionadas (32 mg/L e 16 mg/L) estão apresentadas na Tabela 4.

É possível verificar na Tabela 4 que seria necessário o consumo de 100 gramas do queijo do tratamento 32 mg/L para atingir a dose mínima considerada benéfica para a saúde. A porção estabelecida para uma fatia de queijo, por ocasião de consumo, pesa 30 gramas (ANVISA, 2003), o que representa mais de 3 fatias do queijo 32 mg/L. O queijo do tratamento 32 mg/L poderia ser consumido em porções de 30 gramas recomendadas,

Tabela 3 – Média* da composição físico-química do queijo Prato esférico fabricado com 2 concentrações diferentes de luteína e tratamento controle

Análises	32 mg/L	16 mg/L	Controle
Umidade (%m/m)	45,51 ^a	45,64 ^a	45,67 ^a
GES** (%)	56,89 ^a	58,07 ^a	57,06 ^a
Sólidos Totais (%m/m)	54,49 ^a	54,36 ^a	54,33 ^a
Gordura (%m/m)	31,00 ^a	31,57 ^a	31,00 ^a
RMF*** (%m/m)	3,83 ^a	3,82 ^a	3,32 ^a
pH	5,16 ^a	5,19 ^a	5,46 ^a
Proteína bruta (%m/m)	18,95 ^a	18,39 ^a	19,42 ^a
Atividade de água	0,97 ^a	0,97 ^a	0,98 ^a

* Médias seguidas pela mesma letra numa mesma linha não diferem entre si ($p \geq 0,05$), pelo teste de Tukey

** GES = gordura no extrato seco.

*** RMF = resíduo mineral fixo.

Tabela 4 – Média das concentrações de luteína no leite, no soro e nos queijos dos tratamentos 32 mg/L e 16 mg/L

	Leite (mg 100 mL ⁻¹)	Soro (mg 100 mL ⁻¹)	Queijo (mg 100 g ⁻¹)
32 mg/L	2,2993 ^a	1,8742 ^a	6,0900 ^a
16 mg/L	1,2246 ^b	0,9672 ^b	3,2200 ^b

* Médias seguidas pela mesma letra numa mesma coluna não diferem entre si ($p \geq 0,05$), pelo teste de Tukey.

no entanto, dividido entre as principais refeições do dia, comprovando ser uma boa fonte de luteína. Outra alternativa seria, se considerarmos que a luteína pode ser obtida por outros alimentos como salsa, couve, espinafre e brócolis (STRINGHETA et al., 2006), a ingestão deste queijo, mesmo que em quantidade inferior a 3 fatias, teria uma considerável contribuição para se alcançar a meta de 6 mg de luteína diárias. O restante deveria ser complementado com a ingestão outros alimentos ricos em luteína.

Grande parte da luteína adicionada ao leite neste estudo se perdeu no soro durante a fabricação do queijo. Este fato ocorreu em ambas às concentrações estudadas e os resultados percentuais foram semelhantes tanto para a maior concentração de luteína adicionada ao leite (32 mg/L) quanto para a menor concentração de luteína (16 mg/L) (Tabela 5). Este fato pode ter ocorrido devido ao corante utilizado ser solúvel em água e por este motivo se dissolveu na parte solúvel do leite e se perdeu em sua maioria no soro.

Como a retenção de luteína no queijo foi igual estatisticamente para os dois tratamentos (Tabela 5), podemos concluir que para atingir 6mg de luteína em uma fatia de 30g de queijo, a solução seria aumentar a quantidade adicionada de luteína ao leite, visto que em ambas as doses utilizadas, a retenção foi de aproximadamente de 30%. No entanto, aumentando a concentração de luteína no leite, também aumentaria a porcentagem de perda deste componente no soro e o custo da produção poderia se tornar oneroso. Porém, esses prejuízos seriam minimizados com o aproveitamento do soro para outros

fins, como a fabricação de bebidas lácteas. Essa alternativa beneficiaria não somente a indústria, mas também o consumidor e o meio ambiente.

Em estudo realizado por Kubo et al. (2013), a taxa de recuperação da luteína no queijo foi de 95,25%. Esse resultado foi possível, provavelmente, devido à adição de um emulsificante no leite juntamente com a luteína e também devido a maior porcentagem de luteína contida no corante utilizado (em torno de 20%), o que aumentou a retenção deste corante no queijo.

O presente estudo comprovou que a taxa de retenção de corante no queijo é de aproximadamente 30% (Tabela 5), independente da concentração utilizada, o que comprova que quanto mais corante adicionado ao leite ou mais concentrado for, mais corante ficará retido no queijo.

Kubo et al. (2013) concluíram que a utilização de corantes comerciais com maiores teores de luteína e a utilização de emulsificantes que retenham a luteína no queijo são alternativas para reduzir a sua perda no soro.

As pesquisas com adição de luteína ao leite para a fabricação de queijos ainda é restrita. Além de Kubo et al. (2013), Jones et al. (2005) estudaram a aplicação de luteína em queijo Cheddar com o intuito de alcançar a mínima ingestão diária para causar benefícios. No entanto, neste estudo a luteína foi adicionada à massa, após a fabricação o que poderia provocar manchas nos queijos, caso o produto não fosse homogeneamente aplicado. No entanto, as análises sensoriais realizadas demonstraram que o queijo teve boa aceitação.

Tabela 5 – Taxa de recuperação da luteína no soro e no queijo Prato

RECUPERAÇÃO DA LUTEÍNA	32 mg/L	16 mg/L
Queijo	29,39% ^a	29,70% ^a
Soro	72,46% ^a	70,06% ^a

* Médias seguidas pela mesma letra numa mesma linha não diferem entre si ($p \geq 0,05$), pelo teste de Tukey.

CONCLUSÕES

A porcentagem de retenção de luteína no queijo foi menor que a porcentagem perdida no soro. A tecnologia gerada neste estudo é viável desde que seja possível o aumento do consumo diário deste queijo e haja o aproveitamento do soro para a fabricação de bebidas lácteas ou outros subprodutos do soro.

Novas pesquisas devem ser realizadas empregando-se corantes comerciais contendo maior concentração de luteína pura, bem como agentes capazes de melhorar a capacidade de retenção da luteína no queijo.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento das pesquisas e pelas bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

AHMED, S. S.; LOTT, M. N.; MARCUS, D. M. The macular xanthophylls. **Survey Ophthalmology**, v. 50, n. 2, p. 183-93, 2005.

ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW. Lutein and Zeaxanthin – Monograph. **Alternative Medicine Review**, v. 10, n. 2, p. 128-135, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC n.º 359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 dez. 2003. Seção 1.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS (ABIQ). Produção brasileira de produtos lácteos e estabelecimentos sob inspeção federal. São Paulo, 2012.

BASTOS, R. A. et al. Avaliação da percepção

e preferência dos consumidores em relação a queijo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 390, p. 12-19, 2013.

BERENDSCHOT, T. T. J. M.; GOLDBOEHM, R. A.; KLOPPING, W. Influence of lutein supplementation on macular pigment, assessed with two objective techniques. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 41, n. 11, p. 3322-3326, 2000.

BONE, R. A. et al. Lutein and zeaxanthin dietary supplements raise macular pigment density and serum concentrations of these carotenoids in humans. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 6, p. 992-998, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p. 8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n.º 146, de 7 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 11 mar. 1996. Seção 1, p. 3977-3986.

- DAVIES, N. P.; MORLAND, A. B. Macular pigments: their characteristics and putative role. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 23, n. 5, p. 533-559, 2004.
- FERREIRA, D. F. Sistema de análises de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA, 2000. (SISVAR 4. 1. pacote computacional).
- JONES, S. T.; ARYANA, K. J.; LOSSO, J. N. Storage stability of lutein during ripening of Cheddar Cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 5, p. 1661-1670, 2005.
- KLEIN, R. et al. The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the beaver dam eye study. **Ophthalmology**, v. 104, n. 1, p. 7-21, 1997.
- KOH, H-H. et al. Plasma and macular responses to lutein supplement in subjects with and without age-related maculopathy: a pilot study. **Experimental Eye Research**, v. 79, n. 1, p. 21-27, 2004.
- KRINSKY, N. I., JOHNSON E. J. Carotenoid Actions and their Relation to Health and Disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 6, p. 459-516, 2005.
- KRINSKY, N. I.; LANDRUM, J. T.; BONE, R. A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. **Annual Review Nutrition**, v. 23, p. 171-201, 2003.
- KUBO, M. T. K. et al. Transference of lutein during cheese making, color stability, and sensory acceptance of Prato cheese. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, Supl. 1, p. 81-88, 2013.
- HAMMOND, B. R.; JOHNSON, E. J.; RUSSEL, R. M. et al. Dietary modification of human macular pigment density. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 38, n. 9, p. 1795-1801, 1997.
- LOURENÇO NETO, J. P. M. **Queijos: aspectos tecnológicos**. São Paulo: Master Graf, 2013. 270 p.
- MOZZAFARIEH, M.; SACU, S.; WEDRICH, A. The role of the carotenoids, lutein and zeaxanthin, in protecting against age-related macular degeneration: A review based on controversial evidence. **Nutrition Journal**, v. 2, p. 2-8, 2003.
- PAULA, J. C. J. et al. Aproveitamento de soro de queijo de Coalho na elaboração de bebida láctea fermentada. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 388, p. 25-33, 2012.
- PEREIRA, D. B. C. et al. **Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos**. 1. ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão, 2001. 190 p.
- PINTO, F. A. et al. Método da espectroscopia no infravermelho para análise dos soros de queijos de Minas Padrão e Prato. **Arquivo Brasileiro de medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 4, p. 1039-1042, 2011.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. United of States of American: IISI Human Nutrition Institute, 2001. 64p.
- SEDDON, J. M. et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. **JAMA**, v. 8, n. 272, p. 1413-1420, 1994.
- STRINGHETA, P. C. et al. Luteína: propriedades antioxidantes e benefícios à saúde. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 229-238, 2006.