



Composição Nutricional e Teor de Carotenóides de Doces de Leite Adicionados de Extrato de Urucum (*Bixa orellana*)

*Nutritional Composition and Level of Carotenoids of Dulce de Leche Added of Extract Annatto (*Bixa orellana*)*

Admilson José da Silva Braga¹
Juciane de Abreu Ribeiro Pereira²
Maria de Fátima Píccolo Barcelos³
Michel Cardoso de Angelis-Pereira⁴

¹ Nutricionista da Prefeitura Municipal de Divisa Nova/MG.

² Nutricionista, Mestre em Ciência dos Alimentos, IF Sudeste de Minas Gerais-Campus Barbacena/MG

³ Economista Doméstica, Doutora em Ciência dos Alimentos, Professora da Universidade Federal de Lavras/MG.

^{4*} Nutricionista, Doutor em Ciência dos Alimentos, Professor da Universidade Federal de Lavras/MG

RESUMO

Objetivo: O trabalho objetivou avaliar a composição centesimal, pH e teor de carotenóides de doces de leite tipo caseiro com diferentes concentrações de urucum. **Materiais e Métodos:** Os doces de leite foram elaborados com leite de vaca integral e sacarose, além da adição (0%; 1,0%; 1,5% e 2,0%) de urucum. Foram realizadas análises de composição centesimal, pH e carotenóides, sendo estes últimos extraídos com acetona, para posterior leitura em espectrofotômetro a 450nm. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado e teste de Tukey ($p < 0,05$) para as análises estatísticas. **Resultados:** Os teores de umidade, lipídeos, proteínas e cinzas apresentaram-se dentro dos parâmetros exigidos pela legislação brasileira. As amostras com 0% e 1% de urucum não diferiram significativamente entre si, mas diferiram das amostras com 1,5% e 2,0% de urucum ($p < 0,05$). A adição de extrato de urucum no doce de leite interferiu na composição química do mesmo, entretanto, ainda permaneceu dentro dos limites exigidos pela legislação. **Conclusão:** Os teores de carotenóides nas amostras de doce de leite aumentou proporcionalmente ao acréscimo de extrato de urucum, variando de 0,0281 mg.100g⁻¹ a 0,6030 mg.100g⁻¹, ocorrendo beneficiamento do produto pelo incremento de carotenóides.

Palavras chave: Alimentos funcionais, *Bixa orellana*, Urucum, Carotenóides.

ABSTRACT

Objective: the work aimed to evaluate the percent composition, pH and carotenoid content of home-made type dulce de leche with different concentrations of annatto. **Materials and Methods:** The dulces de leche were made with whole cow milk and sucrose, besides the addition (0%; 1.0%; 1.5% and 2.0%) of annatto. Analyses of percent composition, pH and carotenoids were performed, these latter ones being extracted with acetone for further reading in spectrophotometer at 450nm. Completely randomized design and Tukey test ($p < 0.05$) were utilized for statistical analyses. **Results:** The contents of moisture, lipids, proteins and ashes lay within the parameters demanded by the Brazilian legislation. The samples with both 0% and 1% of annatto did not differ significantly from one another, but they did differ from the samples with 1.5% and 2.0% of annatto ($p < 0.05$). The addition of annatto extract into the dulce de leche interfered in the chemical composition of it; nevertheless, it still remained within the limits demanded by the legislation. **Conclusion:** The carotenoid contents in the samples of dulce de leche increased proportionally with increasing annatto extract, ranging from 0.0281 mg.100g⁻¹ to 0.6030 mg.100g⁻¹, improvement occurring of the product through the increase of carotenoids.

Key words: Functional foods, *Bixa orellana*, Annatto, Carotenoids

Trabalho realizado na Universidade Federal de Lavras

Correspondência:

Michel Cardoso de Angelis-Pereira
Campus Universitário, Caixa Postal: 3037
Universidade Federal de Lavras.
Lavras - MG
E-mail: deangelis@dca.ufla.br

INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) apresentam estreita relação com os hábitos alimentares. Nesse contexto, surge a necessidade da busca de novos produtos alimentícios com característica funcional, que venham contribuir para a prevenção de riscos destas doenças.

Os alimentos funcionais são definidos como qualquer substância ou componente de um alimento que proporcione benefícios para a saúde, inclusive a prevenção e o tratamento de doenças. Esses alimentos podem variar de nutrientes isolados, produtos de biotecnologia, suplementos dietéticos e alimentos geneticamente modificados, até alimentos processados e derivados de plantas, que têm sido desenvolvidos para trazer benefícios com relação à regulação de funções corporais, exercendo proteção contra algumas doenças.¹

As frutas, hortaliças, grãos, alimentos fortificados e também alguns suplementos alimentares são exemplos de alimentos funcionais, citados pelo *International Food Information Council Foundation* (IFIC), órgão que trabalha com questões de comunicação, envolvendo consumidores e nutrição nos Estados Unidos.²

Entre os alimentos com alegação funcional, encontramos o urucum (*Bixa orellana*), que contém uma alta concentração de bixina e norbixina,³ substâncias classificadas como carotenóides, os quais são fortemente pesquisados na área de estudos sobre a ação antioxidante dos alimentos.⁴ Além do mais, estas substâncias conferem aos alimentos uma coloração avermelhada, o que pode ser um atrativo para os consumidores em determinados alimentos, uma vez que podem substituir corantes sintéticos que possuem maior potencial alergênico e cancerígeno.

Os carotenóides bixina e norbixina apresentam duas configurações estereoquímicas, isto é, *cis* e *trans*. Nos extratos em condições normais predomina a *cis*-bixina ou *cis*-norbixina, as quais são mais instáveis. A *cis*-bixina ou *cis*-norbixina em solução sob aquecimento é parcialmente transformada para a configuração *trans*, mais estável, conhecida como isobixina e isonorbixina.⁵

As matérias corantes do urucum são extraídas do pericarpo seco das sementes e por não apresentarem gosto e baixa toxicidade, substituem os corantes artificiais com frequência na produção industrial de massas, carnes, bebidas e derivados do leite. Por esses motivos e outros, como a possível ação antioxidante, vários estudos têm sido conduzidos para avaliar a eficiência da aplicação de urucum em produtos alimentícios.^{6,7} O colorau, pó vermelho à base de urucum, é um produto de baixo custo de produção e um condimento muito comum no interior do Brasil.⁸ O óleo extraído das sementes, por sua vez, tem emprego na fabricação de doces de leite.

O doce de leite, encontrado em referências internacionais como *dulce de leche*, é um importante alimento produzido e comercializado, principalmente, no Brasil e na Argentina. A produção de doce de leite no Brasil é feita por muitas empresas, desde as caseiras, até as grandes, com distribuição em todo o país. Há, entretanto, falta de dados sobre a composição química de amostras, especialmente em relação à possibilidade da ocorrência de fraudes.⁹ Trata-se de um produto obtido pelo cozimento de leite adicionado de sacarose, que adquire coloração, consistência e sabor característicos, em função de reações de escurecimento não enzimático.¹⁰ É um alimento menos perecível que o leite e de grande aceitação sensorial. Apresenta elevado valor nutricional por conter proteínas e minerais, além do conteúdo energético.⁹

Entretanto, sabe-se que o consumo de doces na dieta deve ser limitado devido ao seu alto índice glicêmico. Mas, é importante ressaltar que o consumo moderado deste produto alimentício, adicionado de extrato de urucum pode fornecer nutrientes importantes para o organismo humano associado ao prazer da alimentação, além de fornecer substâncias com atividade antioxidante, que podem vir a contribuir para a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis e colaborar para melhor qualidade de vida.

Baseando-se nos aspectos tecnológicos e nutricionais, este trabalho teve como objetivo desenvolver um doce de leite caseiro adicionado de pasta de urucum em diferentes proporções e avaliar algumas características físicas e químicas dos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Elaboração do doce de leite

O doce de leite tipo caseiro foi elaborado conforme a tradição da população da região da cidade de Alfenas, MG, o qual é produzido com leite de vaca integral pasteurizado com adição de 30% de sacarose.

Foi realizada extração do pigmento de urucum em emulsão água e óleo (óleo de soja), na proporção 2:3, com formação de uma pasta de urucum, a qual foi adicionada nas concentrações de 0%, 1%, 1,5% e 2% no doce de leite.

Os doces de leite foram agitados, acondicionados em potes de polietileno e armazenados a temperatura de refrigeração.

Determinação da composição centesimal do doce de leite

A composição centesimal do doce de leite caseiro foi realizada conforme metodologia proposta pela AOAC.¹¹ A umidade foi determinada pelo método gravimétrico com emprego de calor, e que se baseia na perda de peso do material quando

submetido ao aquecimento (105° C) até peso constante. Para obtenção do extrato etéreo foi utilizado o método de "Soxhlet" (gravimétrico), baseado na perda de peso do material submetido à extração com éter, ou na quantidade de material solubilizado pelo solvente. A proteína bruta foi determinada pelo método de "Kjeldahl", através da determinação do nitrogênio do alimento multiplicando-se pelo fator 6,25. O resíduo mineral fixo (cinzas) foi determinado submetendo as amostras ao aquecimento à 550°C. O extrato não nitrogenado (ENN) foi determinado por diferença dos valores encontrados para umidade, extrato etéreo, proteínas, cinzas e fibras em 100g do produto. Foram realizadas quatro repetições para cada tratamento.

Determinação de pH do doce de leite

Foi preparado um solução com 5g de amostra em 50 mL de água destilada e, após 10 minutos de agitação em agitador magnético, determinou-se o pH, realizando-se a leitura do líquido sobrenadante em peagâmetro digital, de acordo com a metodologia descrita por Cecchi.¹²

Extração e Quantificação de carotenóides totais do doce de leite

A extração de carotenóides das amostras foi baseada nos procedimentos descritos por Rodriguez

*et al.*¹³ Amostras (5g) foram trituradas com acetona e filtradas à vácuo, através de um funil de Büchner. Este procedimento foi repetido até que o resíduo se tornasse incolor e os pigmentos foram transferidos para o erlenmeyer. Então, cada fração foi lavada com água destilada para a remoção completa de acetona.

Após a extração, o teor de carotenóides totais foi determinado em espectrofotômetro a 449nm, como proposto por Ramos & Rodriguez-Amaya.¹⁴ Uma curva padrão correlacionando a concentração de carotenóides totais e a absorbância da solução de pigmentos foi utilizada. Os resultados foram expressos em mg. 100g⁻¹.

Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 tratamentos (concentração de urucum) e 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância complementada pelo teste de Tukey, para comparações múltiplas, sendo os valores de p<0,05 considerados diferenças significativas.

RESULTADOS

A tabela 1 apresenta os valores encontrados para composição centesimal dos doces de leite com diferentes concentrações de urucum.

Tabela 1 - Composição centesimal (%) de amostras de doce de leite adicionado de diferentes concentrações de extrato de urucum

Amostras de doce de leite	Umidade	M.S.*	Lipídeos	Proteínas	Carboidratos totais	Cinzas
0% de urucum	30,61 ^a	69,38 ^a	8,0 ^a	7,67 ^a	51,90 ^a	1,817 ^a
1% de urucum	26,70 ^b	73,30 ^b	9,0 ^b	7,52 ^b	55,06 ^b	1,720 ^b
1,5% de urucum	28,25 ^{cd}	71,76 ^{cd}	9,2 ^{bc}	7,31 ^c	53,21 ^c	2,028 ^c
2,0% de urucum	27,63 ^d	72,37 ^d	9,4 ^c	7,09 ^d	54,02 ^d	1,863 ^d

*M.S.: Matéria seca

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, são iguais entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância

Os valores de pH encontrados para os doces de leite caseiro contendo diferentes proporções de extrato de urucum são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores de pH das amostras de doce de leite adicionado de diferentes concentrações de extrato de urucum

Amostras de doce de leite	pH
0% de urucum	6,9 ^a
1% de urucum	6,6 ^b
1,5% de urucum	6,5 ^b
2,0% de urucum	6,6 ^b

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, são iguais entre si, pelo teste de Tukey , ao nível de 5% de significância

A tabela 3 mostra os níveis de carotenóides encontrados nos doces de leite caseiro com diferentes concentrações de extrato de urucum.

Tabela 3 - Teores médios de carotenóides (mg%) das amostras de doce de leite adicionado de diferentes concentrações de extrato de urucum

Amostras de doce de leite	Teor de carotenóides (mg.100g ⁻¹)
0% de urucum	0,0281 ^a
1% de urucum	0,2884 ^{ab}
1,5% de urucum	0,5448 ^{bc}
2,0% de urucum	0,6030 ^c

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, são iguais entre si, pelo teste de Tukey , ao nível de 5% de significância

DISCUSSÃO

Nas análises realizadas, foram observados que os teores de umidade (26,70% a 30,61%) estão dentro dos parâmetros de referência da legislação brasileira,¹⁵ onde se exige que o doce de leite deva conter teores máximos de umidade de 30%.

Ao estudarem a composição química de doces de leite comum, Torres *et al.*¹⁶ encontraram valor médio de 26,87% de umidade, próximo ao encontrado no presente trabalho. Já Demiate *et al.*,⁹ ao avaliarem amostras comerciais de doce de leite, encontraram maior heterogeneidade em relação aos conteúdos de umidade, sendo que os valores oscilaram desde 19,0 até 37,2%.

Os valores encontrados para o conteúdo de lipídeos variaram de 8,0% a 9,4%, sendo que nos doces de leite com 1,5% e 2,0% de extrato de urucum esse teor ultrapassou os

valores estipulados pela legislação,¹⁵ que deve estar entre 6,0 e 9,0% (p/p). Pôde-se perceber o aumento gradual do teor de lipídeos à medida que se elevou o percentual de adição de urucum no doce de leite. Este fato pode ser explicado devido ao acréscimo do extrato de urucum, o qual foi elaborado utilizando-se emulsão contendo óleo de soja. Todavia, a adição do extrato de urucum em 1%, 1,5% e 2% não alterou de forma significativa os padrões de adequação do produto. Uma alternativa para redução na concentração de lipídeos para mantê-la nas proporções estabelecidas pela legislação brasileira seria utilizar leite desnatado nas formulações.

No trabalho de Demiate *et al.*,⁹ o teor de lipídios das amostras de doce de leite comercial analisadas variou desde 0% em uma amostra de doce de leite desnatado, até 8,4%, assemelhando-se aos teores de lipídeos encontrados para os doces de leite sem adição

de urucum e com 0,5% deste composto. Por outro lado, os resultados para lipídeos de todos os doces de leite deste trabalho foram superiores ao apresentado pelo estudo de Torres *et al.*,¹⁶ o qual foi de 6,88%. Já no estudo de Milagres *et al.*¹⁷ com doces de leite sem adição de sacarose, a variação foi de 6,5% a 9,5%, sendo que as formulações com edulcorantes ultrapassaram o limite de 9% de lipídeos preconizado pela legislação, assim como os doces de leite com 1,5% e 2,0% de extrato de urucum do presente estudo. Essas mesmas características foram constatadas por Santos & Marques¹⁸ que analisaram doces de leite vendidos no comércio informal de Currais Novos (RN), em que encontraram um conteúdo de gorduras oscilante entre 6,5% a 9,5%.

O valor encontrado para proteínas no doce de leite com diferentes concentrações de urucum variou de 7,09% a 7,67%, atendendo ao preconizado pela legislação que exige um teor mínimo de 5,0% (p/p). Entretanto, o teor de proteína foi diminuindo nas amostras, à medida que foi sendo acrescentada pasta de urucum que contém uma parcela de lipídios.

As amostras comerciais de doce de leite avaliadas por Demiate *et al.*⁹ apresentaram teores de proteína entre 1,4% e 13,9%, demonstrando a falta de padronização dos produtos, inclusive níveis inferiores ao preconizado pela legislação brasileira. Por outro lado, o conteúdo de proteínas (5,38%) obtido por Torres *et al.*¹⁶ ao analisarem doce de leite comercial, foi menor que o encontrado para os doces de leite adicionados de urucum do presente estudo.

É importante ressaltar que a composição protéica total do leite reúne várias proteínas específicas, dentre as quais, a mais importante é a caseína, que perfaz cerca de 80% das proteínas lácteas, e os 20% restantes são proteínas do soro.¹⁹ As demais proteínas do leite estão em formas solúveis, que são as proteínas do soro representadas pela β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina, com respectivamente 10% e 4%, no total do soro, além de outras proteínas.^{20,21} As proteínas solúveis do soro do leite, assim como a caseína, apresentam um excelente perfil de aminoácidos, caracterizando-as como proteínas de alto valor biológico.²²

A concentração de cinzas dos doces de leite esteve entre 1,720% e 2,028%, estando

dentro do padrão estabelecido pela legislação¹⁵ que é de no máximo 2,0% (p/p). Demiate *et al.*⁹ constataram uma variação de 0,8% a 2,1% de cinzas em doces de leite pastosos comerciais e Torres *et al.*¹⁶ obtiveram 1,04% de cinzas, valores que se aproximam da faixa de conteúdo de cinzas dos doces de leite do presente trabalho.

O teor de cinzas é um dos melhores indicadores da presença de leite no produto, pois é um valor constante nessa matéria-prima. Como é permitida a adição de bicarbonato de sódio, e, também de alguns outros sais na produção do doce de leite, pode haver valores elevados de cinzas. Baixos valores, por outro lado, podem indicar que os produtos foram obtidos com pouco leite ou outras matérias-primas lácteas.⁹

Os valores de pH encontrados variaram de 6,5 a 6,9, sendo que os doces de leite adicionados de urucum não diferiram entre si, mas diferiram do doce de leite elaborado somente com sacarose. Milagres *et al.*¹⁷ obtiveram a variação de pH de 6,22 a 6,46 para doces elaborados com sacarose, sucralose e mistura de ciclamato, sacarina e sorbitol. Estes valores ficaram próximos aos encontrados para o doce de leite caseiro adicionado ou não de urucum. Já no estudo de Santos & Marques,¹⁸ ao analisar doces de leite vendidos no comércio informal de Currais Novos (RN), encontraram pH variando entre 5,2 e 6,6, sendo que somente uma amostra apresentou-se com um pH mais distante aos produtos do presente trabalho.

O teor de carotenóides aumentou à medida que houve aumento na concentração de extrato de urucum. Os níveis variaram de 0,0281 mg.100g⁻¹ a 0,6030 mg.100g⁻¹. As amostras de doce de leite com 0% e 1% de urucum não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), mas diferiram das amostras com 1,5% e 2,0% de urucum. Pôde-se constatar também que o conteúdo de carotenóides totais dos doces se deve principalmente à presença de urucum, pois o doce de leite contendo somente leite e sacarose apresenta baixo conteúdo destes compostos.

Ramos *et al.*²³ ao avaliarem o teor de β -caroteno em polpa da bocaiúva encontraram teor de 4,9 mg.100g⁻¹, correspondendo a cerca de 80% dos carotenóides totais encontrados na polpa, ou seja, o teor de carotenóides totais seria

em torno de 6,12 mg.100g⁻¹. O doce de leite com 1% de urucum tem 1g deste componente em 100g do produto, proporcionalmente existe 28,84 mg de carotenóides totais em 100g de urucum, teor este superior ao encontrado na polpa de bocaiúva, o que destaca o urucum como interessante fonte de carotenóides para ser adicionado à produtos alimentícios.

Por outro lado, os níveis de carotenóides totais encontrados para os doces de leite foram inferiores aos obtidos por Tocchini & Mercadante³ em diferentes amostras de coloríferos à base de urucum (156,1mg.100g⁻¹ a 360,6mg.100g⁻¹). Da mesma forma, ao se comparar o conteúdo de carotenóides totais (bixina e norbixina) destes coloríferos comerciais, com o teor correspondente do urucum utilizado para elaboração dos doces, constata-se que o primeiro é superior ao último.

No estudo de Silva *et al.*²⁴ foi avaliado o conteúdo de bixina (carotenóide majoritário no urucum) em corantes de urucum extraídos com diferentes tipos de solventes e estes obtiveram uma faixa de variação de 105mg a 230mg.100g⁻¹ de bixina. Portanto, essas concentrações foram mais elevadas, do que as apresentadas para carotenóides totais nos doces de leite adicionados de urucum, independentemente da concentração de urucum adicionada.

Em comparação aos demais trabalhos que realizaram extração do urucum, pode se constatar que a forma de extração utilizada no presente trabalho acaba por obter menor concentração do corante natural e, conseqüentemente, de carotenóides totais, embora seja uma forma segura, natural e ao mesmo tempo prática para se fazer a extração.

É importante destacar que no trabalho de Tochini & Mercadante,³ as amostras foram obtidas no comércio, não havendo portanto, conhecimento da forma de extração do urucum. Já no estudo de Silva *et al.*,²⁴ as extrações foram realizadas com solventes. Segundo Prentice-Hernandez & Rusig,²⁵ os métodos mais utilizados para extrair o pigmento das sementes de urucum são a extração alcalina (sal da norbixina), a extração em óleo (bixina) e a extração com solvente, obtendo-se neste último caso, produto com maior grau de pureza.

CONCLUSÕES

O doce de leite é um produto com pouca uniformidade e sem muita padronização no Brasil, embora seja produzido em grandes proporções e amplamente consumido pela população. Todavia, pôde-se constatar que o doce de leite tipo caseiro acrescido de diferentes concentrações de urucum apresentou composição química próxima aos padrões estabelecidos pela legislação. Além disso, pôde-se confirmar o importante conteúdo nutricional dos produtos elaborados, os quais além dos constituintes convencionais de doces de leite, apresentaram conteúdo significativo de carotenóides, que são substâncias bioativas com efeito antioxidante e que trazem benefícios à saúde humana.

REFERÊNCIAS

1. Anjo DFC. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. J Vas Bras. 2004;3: 145-54.
2. International Food Information Council Foundation – IFIC. Functional Foods [Internet]. 2006. [Acesso 2001 out 15]. Disponível em <http://www.ific.org/nutrition/functional>.
3. Tocchini L, Mercadante AZ. Extração e determinação, por CLAE de bixina e norbixina em coloríficos. Ciênc Tecnol Aliment. 2001;21(3):310-3.
4. Chisté RC, Mercadante AZ, Gomes A, Fernandes E, Lima JLFC, Bragagnolo N. *In vitro* scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. Food Chem. 2011;127:419-26.
5. Association Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC. Arlington; 1999. p. 518-9.
6. Zarringhalami S, Sahari MA, Hamidi-Esfehani Z. Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage. Meat Science. 2009;81:281-4.
7. Castro WF, Mariutti LRB, Bragagnolo N. The effects of colorífico on lipid oxidation, colour and vitamin E in raw and grilled chicken patties during frozen storage. Food Chem. 2011;124:126-31.
8. Agner AR, Barbisan LF, Scolastici C, Salvadori DMF. Absence of carcinogenic and anticarcinogenic effects of annatto in the rat liver medium-term assay. Food Chemical Toxicology. 2004;42:1687-93.
9. Demiate IM, Konkel FE, Pedroso RA. Avaliação da qualidade de amostras

- comerciais de doce de leite pastoso - composição química. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2001;21(1):108-14.
10. Hough G, Buera MP, Martinez E, Resnik S. Effect of composition on non-enzymatic browning rate in dulce de leche-like systems. *An Assoc Química Argentina.* 1991;79(1):31-40.
 11. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th ed. Arlington: AOAC; 1998. v.1
 12. Cecchi HM. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Campinas: UNICAMP; 2003.
 13. Rodriguez DB, Raymond LC, Lee T, Simpson KL, Chichester CO. Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* fruits. *Ann Bot.* 1976;40:615-24.
 14. Ramos DMR, Rodriguez-Amaya DB. Avaliação das perdas de carotenóides e valor de vitamina A durante desidratação e liofilização industrial de espinafre. *Arq biol tecnol.* 1993; 36(1):83-94.
 15. Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria N.0 354, de 4 de setembro de 1997 [Internet]. [Acesso 2010 nov 22]. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>
 16. Torres EAFS, Campos NC, Duarte M, Garbelotti ML, Philippi ST, Rodrigues RSM. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2000;20(2):145-50.
 17. Milagres MP, Dias G, Magalhães MA, Silva MO, Ramos AM. Análise físico-química e sensorial de doce de leite produzido sem adição de sacarose. *Rev Ceres.* 2010;57(4):439-45.
 18. Santos RA, Marques RCP. Análise microbiológica e físico-química de doce de leite vendido no comércio informal de Currais Novos/RN. *HOLOS.* 2010;5:131-6.
 19. Aguiar, CL, Coro FAG, Pedrão MR. Componentes ativos de origem animal. *Boletim CEPPA.* 2005;23(2):413-34.
 20. González FH, Durr JW, Fontaneli R. Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras [Internet]. UFRGS. Porto Alegre; [Acesso 2010 ago 05] 2001. Disponível em: <http://www.ufrgs.br>
 21. Gonçalves ECBA. Análise de alimentos – uma visão química da Nutrição. 2ª ed. São Paulo: Varela; 2006.
 22. Haraguchi FK, Abreu WC, De Paula H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. *Rev Nutr.* 2006;19(4):479-88.
 23. Ramos MIL, Ramos Filho MM, Hiane PA, Braga Neto JA, Siqueira EMA. Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2008;28(Supl.):90-4.
 24. Silva PI, Nachtigall AM, Stringheta PC. Eficiência de solventes na obtenção e caracterização de corantes de urucum (*Bixa orellana* L.). *B.CEPPA.* 2010;28(1):115-24.
 25. Prentice-Hernandez C, Rusig O. Extrato de urucum (*Bixa orellana* L.) obtido utilizando álcool etílico como solvente. *Arq Biol Tecnol.* 1992;35(1):63-74.

Correspondência: Michel Cardoso de Angelis-Pereira - Campus Universitário, Caixa Postal: 3037 - Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG - E-mail: deangelis@dca.ufla.br