

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E  
ESTABILIDADE OXIDATIVA DE MANTEIGAS DO LEITE DE VACAS  
ALIMENTADAS COM CANA-DE-AÇÚCAR SUPLEMENTADA COM ÓLEO DE  
GIRASSOL

PATRICIA APARECIDA VIEIRA DE BARROS

BELO HORIZONTE, MG  
2011

Patricia Aparecida Vieira de Barros

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E  
ESTABILIDADE OXIDATIVA DE MANTEIGAS DO LEITE DE VACAS  
ALIMENTADAS COM CANA-DE-AÇÚCAR SUPLEMENTADA COM ÓLEO DE  
GIRASSOL

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal.

Orientadora: Maria Beatriz Abreu Glória

Co-orientador: Fernando César Ferraz Lopes

BELO HORIZONTE, MG  
Escola de Veterinária, UFMG  
2011

## FICHA CATALOGRÁFICA

Dissertação defendida e aprovada em 26 de setembro de 2011, pela Comissão Examinadora constituída por:



---

Prof.ª. Marta Beatriz Abreu Glória  
Presidente



---

Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva



---

Prof. Leorges Moraes da Fonseca



---

Prof. Fernando César Ferraz Lopes

A minha mãe que é a luz do meu caminho,  
por ter abdicado de tantos sonhos para que  
se realizasse os meus  
eu dedico

## AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda inspiração, pela fé, por me mostrar os caminhos a seguir, e por sempre abrir as portas em minha vida.

A minha mãe, fonte de luz, amor e força, que dedica sua vida aos filhos e familiares, que abriu mão de muitos dos seus sonhos para dedicar-se a minha formação e a do meu irmão, patrocinadora e torcedora oficial desta conquista e ao meu irmão Leandro.

Ao meu pai, meu grande orgulho. Queria poder vibrar junto com você esta conquista, mas acredito que onde esteja, está vencendo comigo.

Aos meus familiares pelo carinho, incentivo e pelas orações.

À Professora Maria Beatriz Abreu Glória pelo acolhimento, disponibilidade e sugestões sábias.

Ao Fernando César Ferraz Lopes pelo suporte, confiança, disponibilidade e exemplo profissional.

Ao Marco Antonio Sundfeld da Gama pelos ensinamentos e por estar sempre disposto a ajudar.

A Shirley Motta e Maria Ignez pela parceria na execução deste projeto.

Aos meus amigos do Laboratório de Bioquímica de Alimentos Adriana Mendonça, Bruno De Paula, Caroline Paiva, Cecília Müller, Flávia Mendes, Guilherme Reis, Janice Melo, Juliana Rigueira, Kátia Freitas, Larissa Bomtempo, Letícia Guidi, Patrícia Amaral, Pedro Prates, Priscila Sabaini, Regina Adão, Regina Carvalho, Rummenigge Oliveira, Valdirene Neves, Warley Pinheiro pelas orientações, pela amizade e pelo agradável convívio no ambiente de trabalho.

Aos colegas do mestrado em especial à Franciane Bastos pelo companheirismo, amizade, carinho.

Ao Kiko Mourthé pelo carinho, desabafos e grande ajuda.

A Thuane Martins e Raquel Carvalho pela amizade e cumplicidade no dia a dia.

Aos professores do DTIPOA-EV, em especial aos Professores Marcelo Resende de Souza, Cláudia Freire de Andrade Moraes Penna e Leorges Moraes da Fonseca pelo aprendizado, auxílio e convivência.

Aos funcionários do DTIPOA-EV que sempre colaboraram com gentileza e simpatia.

Aos funcionários da Embrapa Gado de Leite José Moreira de Castilho, Rosemeire Aparecida de Carvalho Dornelas, Marcial Dornelas e Marlice Teixeira Ribeiro pelo auxílio na produção das manteigas.

Aos funcionários do Laboratório de Cromatografia da Embrapa Gado de Leite Hernani Guilherme B. Filho e Ernando Ferreira Motta, responsáveis pelas análises de perfil de ácidos graxos do leite.

A estagiária Mariana Macedo de Almeida responsável pela extração do perfil de ácidos graxos das manteigas.

Aos amigos da turma BIO2009, mesmo distante sempre presentes. Obrigada pelo carinho.

Aos professores membros da banca pelas sugestões importantes na finalização da dissertação.

À FAPEMIG (Processo CVZ APQ 01751/09), ao CNPq (Processo 478388/2009-8) pelo apoio financeiro ao Projeto e à Embrapa, por ceder às instalações, laboratórios e animais.

A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, aqui está o fruto de um trabalho coletivo.

Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível.

São Francisco de Assis

---

## SUMÁRIO

---

	<b>RESUMO.....</b>	<b>13</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>14</b>
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
2.1.	Ácidos graxos.....	16
2.1.2.	Ácidos graxos na saúde humana.....	17
2.1.2.1.	Ácidos graxos poli-insaturados ômega 6 e ômega 3.....	17
2.1.2.2.	Ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos .....	18
2.1.2.3.	Índices de aterogenicidade e trombogenicidade.....	18
2.2.	Ácido linoleico conjugado.....	19
2.2.1.	Caracterização do ácido linoleico conjugado.....	19
2.2.2.	Efeitos benéficos do ácido linoleico conjugado.....	21
2.2.3.	Produção do ácido linoleico conjugado total.....	22
2.2.3.1.	Biossíntese ruminal de ácido linoleico conjugado.....	22
2.2.3.2.	Produção endógena do ácido linoleico conjugado.....	23
2.2.4.	Influência da dieta na produção do ácido linoleico conjugado.....	23
2.3.	Óleo de girassol.....	25
2.4.	Oxidação lipídica.....	25
2.4.1.	Oxidação de lipídios em alimentos.....	25
2.4.2.	Fatores que afetam a oxidação dos lipídios.....	26
2.4.2.1.	Composição de ácidos graxos.....	26
2.4.2.2.	Oxigênio.....	26
2.4.2.3.	Temperatura.....	27
2.4.2.4.	Atividade de água.....	27
2.4.2.5.	Luz.....	27
2.4.3.	Mecanismos de oxidação.....	27
2.4.3.1.	Autooxidação.....	28
2.4.4.	Oxidação lipídica e prejuízos nutricionais.....	29
2.4.5.	Determinação do estado oxidativo.....	29
2.4.5.1.	Efeito da insaturação sobre a estabilidade oxidativa.....	31
2.5.	Manteiga.....	32
<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
3.1.	Material.....	33
3.1.1.	Amostras.....	33
3.1.1.1.	Animais e tratamentos.....	33
3.1.2.	Reagentes.....	34
3.2.	Métodos.....	34
3.2.1.	Produção da manteiga.....	34
3.3.	Métodos de análises.....	34
3.3.1.	Perfil de ácidos graxos.....	34
3.3.2.	Determinação da qualidade nutricional.....	35
3.3.2.1.	Índices de aterogenicidade e trombogenicidade.....	36
3.3.2.2.	Razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos	36
3.3.2.3.	Relação dos ácidos graxos poli-insaturados ômega 6/ ômega 3.....	36

3.3.3.	Determinação da estabilidade oxidativa.....	37
3.3.4.	Caracterização físico-química e determinação da cor da manteiga.....	37
3.3.4.1.	Determinação do teor de umidade.....	37
3.3.4.2.	Determinação da acidez titulável.....	38
3.3.4.3.	Determinação do teor de gordura.....	38
3.3.4.4.	Determinação da cor.....	38
3.4.	Análise estatística.....	39
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>39</b>
4.1.	Perfil de ácidos graxos.....	39
4.2.	Índices da qualidade nutricional dos lipídeos das manteigas.....	44
4.2.1.	Índice de aterogenicidade e trombogenicidade.....	44
4.2.2.	Razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos	45
4.2.3.	Relação dos ácidos graxos poli-insaturados ômega 6/ômega 3.....	45
4.3.	Estabilidade oxidativa.....	45
4.4.	Análise físico-química.....	47
4.4.1.	Acidez titulável.....	47
4.4.2.	Umidade.....	47
4.4.3.	Gordura.....	48
4.4.4.	Cor.....	48
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>
<b>7.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>57</b>

---

LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1. Teor percentual médio de ácidos graxos presente nos diferentes óleos vegetais.....	16
Tabela 2. Concentrações de ácido linoleico conjugado total e CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 em diferentes alimentos.....	20
Tabela 3. Resumo dos efeitos biológicos dos de dois principais CLAs.....	21
Tabela 4. Perfil de ácidos graxos – AG (g/100 g de AG totais) nas manteigas produzidas do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com níveis crescentes de óleo de girassol (OG) na matéria seca (MS) da dieta.....	40
Tabela 5. Índice de aterogenicidade e trombogenicidade, relação de ácidos graxos hipocolesterolêmicos: hipercolesterolêmico (h/H) e de ácidos graxos (g/100 g de AG totais) poli-insaturados ômega-6/ômega-3 em manteigas oriundas do leite de vacas recebendo 0; 1,5; 3,0 ou 4,5% de óleo de girassol (OG) na dieta.....	44
Tabela 6. Requisitos físico-químicos de manteigas produzidas do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com níveis crescentes de óleo de girassol (OG) na matéria seca da dieta.....	47

---

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1.	Estrutura dos isômeros de CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 e do ácido linoleico (C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12).....	20
Figura 2.	Principais vias metabólicas de formação dos isômeros do CLA no leite.....	23
Figura 3.	Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.....	28
Figura 4.	Esquema de funcionamento do Rancimat® .....	30
Figura 5.	Esquema da determinação da estabilidade oxidativa por meio de Rancimat® .....	31
Figura 6.	Fluxograma do processo de obtenção da manteiga.....	35
Figura 7.	Estabilidade oxidativa (horas) em manteigas oriundas do leite de vacas recebendo 0; 1,5; 3,0 ou 4,5% de óleo de girassol (OG) na dieta.....	46
Figura 8.	Curvas da determinação da estabilidade oxidativa por meio de Rancimat® .....	46

---

## LISTA DE ANEXOS

---

Anexo 1.	Composição centesimal e química das dietas experimentais com diferentes níveis de óleo de girassol fornecidas a vacas em lactação.....	57
Anexo 2.	Composição do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com níveis crescentes de óleo de girassol na matéria seca da dieta.....	57
Anexo 3	Perfil de ácidos graxos - AG (g/100 g de AG totais) da cana de açúcar, óleo de girassol e dos tratamentos contendo níveis crescentes de inclusão de óleo de girassol (OG) com base na matéria seca (MS).....	58

---

### LISTA DE ABREVIATURA

---

AG	-Ácidos graxos
AGCM	-Ácidos graxos de cadeia média
AGI	-Ácidos graxos insaturados
AGMI	-Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	-Ácidos graxos poli-insaturados
AGS	-Ácidos graxos saturados
CLA	-Ácido linoleico conjugado
h	-Hipocolesterolêmicos
H	-Hipercolesterolêmico
IA	-Índice de aterogenicidade
IT	-Índice de trombogenicidade
MS	-Matéria seca
OG	-Óleo de girassol
OS	-Óleo de soja

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de ácidos graxos (AG), a qualidade nutricional e a estabilidade oxidativa (EO) de manteigas oriundas do leite de vacas recebendo cana-de-açúcar suplementada com 0 (T0); 1,5 (T1,5); 3,0 (T3,0) ou 4,5% (T4,5) de óleo de girassol (OG) na matéria seca da dieta. O delineamento experimental foi Quadrado Latino (QL) 4 x 4 com cada período composto por onze dias, divididos em dez dias de adaptação das vacas às dietas e um, para coleta de amostras. Em cada fase de coleta do QL foram confeccionadas manteigas referentes aos quatro tratamentos (n=16), que foram analisadas quando ao perfil de ácidos graxos por GC-FID e as características físico-químicas de acordo com métodos oficiais. O perfil de ácidos graxos foi utilizado para o cálculo de alguns parâmetros nutricionais, entre eles, índice de aterogenicidade, trombogenicidade, e relação ômega 6/ômega 3 e hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmicos. Houve redução linear ( $P<0,05$ ) das concentrações dos AG láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) em 53; 34 e 39%. Houve também aumento linear ( $P<0,05$ ) em 867, 687 e 148% das concentrações dos CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-11), vaccênico (C18:1 *trans*-11) e oleico (C18:1 *cis*-9), respectivamente, com a suplementação do T0 para o T4,5. Com relação à qualidade nutricional das manteigas, houve redução linear ( $P<0,05$ ) para os índices de aterogenicidade (4,02; 2,70; 1,80 e 1,41) e trombogenicidade (4,68; 3,43; 2,50 e 2,05), aumento linear ( $P<0,05$ ) na relação dos AG hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmico (0,30; 0,45; 0,62; 0,70) com o aumento do OG nas dietas das vacas. A EO das manteigas foi de 4,00; 3,03; 2,42 e 1,68 h, respectivamente, para T0; T1,5; T3,0 e T4,5, apresentando efeito linear ( $P<0,05$ ). A adição crescente de OG à dieta propiciou manteigas com melhor perfil de AG em relação ao valor nutricional para a saúde humana, no entanto, houve diminuição na vida de prateleira da manteiga.

**PALAVRAS CHAVE:** lipídeos; CLA; oxidação; lácteos; saúde.

## ABSTRACT

*The objective of this study was to evaluate the profile of fatty acids (FA), the nutritive quality and the oxidative stability (OE) of butter made with milk from cows fed with sugar cane 0 (T0); 1.5 (T1.5); 3.0(T3.0) and 4.5% (T4.5) of sunflower oil (SO). A randomized 4 x 4 Latin Square (LS) design was used, each period consisting of 10 days of cows' diet adaptation and, one day of sample collection. Butters were produced in an artisanal way with milk from every treatment (total of 16 butters). The butters were analyzed for the fatty acids profile by GC-FID and for the physic-chemical characteristics according to official methods. The fatty acid profile was used for the calculation of some nutritional parameters, among them, indexes of atherogenicity, thrombogenicity, and omega-6/omega-3 and hypocholesterolemic/hypercholesterolemic ratios. There was a reduction ( $P < 0.05$ ) on the proportion of the FA lauric (C12), myristic (C14) and palmitic (C16) of 53, 34 and 39%. There was also a linear increase ( $P < 0.05$ ) of 867, 687, 148% on the proportion of the FA conjugated linoleic acid (C18:2 cis-9 trans-11), vaccenic (C18:1 trans-11) and oleic (C18:1cis-9), respectively, with supplementation of T0 to T4.5. With respect to the nutritional quality of the butters, there was a linear decrease ( $P < 0.05$ ) on the atherogenicity (4.02, 2.70, 1.80 and 1.41) and thrombogenicity indexes (4.68, 3.43, 2.50 and 2.05) and there was a linear increase ( $P < 0.05$ ) on the hypocholesterolemic/hypercholesterolemic ratio (0.30, 0.45, 0.62, 0.70) with the increase of SO to the cows' diet. The oxidative stability of the butter was 4.0, 3.03, 2.42 and 1.68 h, respectively, for T0, 1.5, 3.0 and 4.5. The increased SO in the cows' diet provided butter with an improved FA profile with regard to nutritional value for human health; however, there was a decrease on the butter of the shelf life.*

**KEY WORDS:** lipids; CLA; oxidation; dairy products; health.

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a maior divulgação e/ou acesso a informações sobre o papel dos alimentos na saúde tem despertado grande interesse da população sobre os cuidados para com a alimentação mais saudável. A maior atenção com a saúde tem aumentado a exigência das pessoas quanto à qualidade e valor nutricional dos alimentos. Desta forma, a composição nutricional tem sido fator cada vez mais importante para a decisão de comprar determinado produto. A preocupação com a obesidade, hipercolesterolemia, hipertensão, entre outras doenças, tem aumentado a tendência dos consumidores por produtos com menores valores calóricos e teor de sódio. Esta mudança de hábito das pessoas também tem influenciado a indústria a modificar a composição dos seus produtos.

Os produtos lácteos também passam por estas mudanças e os consumidores questionam a proporção de ácidos graxos saturados (AGS) destes produtos. Porém, o teor e perfil de ácidos graxos (AG) do leite e, conseqüentemente, de seus derivados podem ser alterados por meio da dieta fornecida aos animais, de modo a torná-los mais saudáveis do ponto de vista nutricional, tal como a redução dos AGS e aumento dos ácidos AG poli-insaturados (AGPI).

Recentemente, diversas pesquisas foram realizadas com o intuito de alterar a composição da gordura do leite, tornando-a mais adequada ao consumo humano (Gama et al., 2008; Lopes et al., 2009). Neste sentido, com foco na redução do risco de doenças cardiovasculares, tem-se buscado a

diminuição dos teores dos ácidos graxos saturados de cadeia média, como láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0), e o aumento da concentração do ácido oleico (C18:1 *cis*-9) no leite (Dewhurst et al., 2006). Também tem-se buscado aumentar a concentração do ácido vaccênico (C18:1 *trans*-11), que é o precursor do CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) na síntese endógena da glândula mamária (Griinari et al., 2000).

Neste contexto, estudos experimentais revelaram que o CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-11), um isômero do ácido linoleico conjugado (CLA), é um potente agente anticarcinogênico, o que contribui para a reavaliação dos produtos originados dos ruminantes, pois o leite e seus derivados são as mais ricas fontes naturais desse AG (Elgersma et al., 2006).

O aumento das concentrações do CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-12) nos produtos lácteos pode ser obtido por meio do fornecimento de óleo de girassol à dieta das vacas, devido a elevada concentração de ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12) contido na semente deste vegetal. Porém, o aumento da concentração dos AGPI pode reduzir a estabilidade oxidativa dos produtos, o que reflete na maior susceptibilidade à oxidação e ao menor prazo de validade.

Baseado nestas informações, este trabalho teve como objetivo investigar a influência da dieta de vacas com crescentes percentuais de óleo de girassol no perfil lipídico e na qualidade nutricional e estabilidade de manteigas. Os objetivos específicos foram avaliar o perfil de ácidos graxos, o potencial nutricional, a estabilidade oxidativa e a

composição físico-química destas manteigas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Ácidos graxos

Os ácidos graxos (AG) são constituídos por uma cadeia de hidrocarbonetos, cujo comprimento varia de quatro a 36 átomos de carbono (C), com um grupo metil (CH<sub>3</sub>) em uma extremidade e um grupo carboxil (COOH) na outra (Nelson e Cox, 2002).

Os AG são lipídios naturais, normalmente com número par de átomos de carbono, podendo ser saturados (AGS), contendo apenas ligações simples entre carbonos, ou insaturados (AGI), contendo uma ou mais insaturações (dupla ligação) na cadeia carbônica, sendo estes divididos em: monoinsaturados - AGMI (uma insaturação) e poli-insaturados-AGPI (com duas ou mais insaturações) (Appolinário et al., 2011).

A composição dos lipídios é um dos determinantes de qualidade tecnológica e nutricional no leite. Os lipídios estão relacionados com o rendimento da produção dos derivados lácteos, e os diferentes AG saturados e insaturados

que os compõem estão associados positiva ou negativamente à saúde dos consumidores (Chiara et al., 2003). A suplementação de lipídios na dieta de ruminantes possibilita a alteração da concentração de AG específicos na gordura do leite, de acordo com a necessidade da indústria alimentícia e com o consumo humano (Urano, 2009).

As pesquisas sobre o perfil de AG têm ganhado cada vez mais importância, devido ao maior interesse da população em produtos saudáveis e equilibrados em seus nutrientes. Segundo Ulbricht e Southgate (1991), o consumo excessivo e descontrolado de AGS pode alterar os níveis de colesterol sanguíneo, que está diretamente relacionado com a incidência de doenças cardiovasculares na população humana.

Teores elevados de AG saturados são encontrados em óleos de cacau, côco e amêndoa. Os AGMI estão presentes em elevada concentração no óleo de oliva, canola, açafrão e amendoim. Os AGPI são encontrados em grande concentração em óleos de girassol, soja e milho (Williams, 2000). O perfil de ácidos graxos de alguns óleos vegetais são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teor percentual médio de ácidos graxos presente nos diferentes óleos vegetais

Oleaginosas	Principais ácidos graxos (%)					AGS (%)	AGMI (%)	AGPI (%)
	Láurico	Oleico	Linoleico	Linolênico	Erúico			
Algodão	-	13,7	56,5	0,1	-	26,8	14,4	56,6
Amendoim	-	40,7	33,9	0,1	-	21,3	17,1	34,0
Canola	-	60,3	20,1	9,5	0,7	6,3	62,8	29,6
Gergelim	-	41,6	42,3	0,3	-	15,1	42,0	42,6
Girassol	-	23,1	65,1	0,2	-	11,6	23,1	65,3
Linhaça	-	19,9	15,9	52,7	-	9,5	19,9	68,6
Oliva	-	64,0	15,9	0,1	-	18,0	66,0	16,0
Palma	44,7	17,2	2,9	0,1	-	76,5	17,1	3,0
Soja	-	24,8	52,2	7,7	-	15,2	24,8	60,0

Fonte: Oliveira e Vieira (2004).

AGS = ácidos graxos saturados; AGMI = ácidos graxos monoinsaturados; AGPI = ácidos graxos poli-insaturados.

### 2.1.2. Ácidos graxos na saúde humana

A população está cada vez mais exigente quanto à qualidade nutricional dos produtos alimentícios. A composição dos AGs dos alimentos é critério que ganha cada vez mais importância na escolha dos produtos a serem consumidos, isto porque é recomendada a redução da ingestão de gorduras ricas em colesterol e AGS, e o aumento do consumo de AGMI e AGPI, com o propósito de diminuir riscos de obesidade, câncer e doenças cardiovasculares (Jakobsen, 1999; Pelegrini, 2007).

A diminuição do risco de doenças coronárias em seres humanos está associada à menor ingestão de AGS e maior consumo de AGPI, ou seja, a maior relação AGPI:AGS (Hu et al., 1999). A alta ingestão de ácido mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), e láurico (C12:0) aumenta a concentração das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), enquanto o maior consumo de AGI tem o efeito inverso em humanos (Mensink et al., 2003). Além disso, alguns isômeros do ácido graxo linoleico conjugado (CLA) têm apresentado potenciais efeitos anticarcinogênicos em estudos com animais (Hughes e Dhiman, 2002).

#### 2.1.2.1. Ácidos graxos poli-insaturados ômega 6 e ômega 3

As séries ômega-3 e ômega-6 abrangem AG que apresentam insaturações separadas apenas por um carbono metilênico, com a primeira insaturação no terceiro e sexto carbonos,

respectivamente, enumerados a partir do grupo metil terminal. Devido às diferenças fisiológicas entre as famílias ômega 6 e ômega 3 e à simplicidade da designação *n*, esta notação passou a ser mais empregada ao estudar aspectos nutricionais envolvendo AG (Martin et al., 2006).

Os AG ômega 6 e ômega 3 são denominados essenciais, devido à incapacidade do organismo em produzi-los (Bernadino, 2009), e serem fundamentais em reações como a transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo; a síntese de hemoglobina e a divisão celular (Martin et al., 2006). São importantes também como precursores de hormônios (Ulbricht e Southgate, 1991). Por outro lado, o aumento de alguns desses ácidos ômega 6 ou ômega 3, ou a alteração da relação entre eles, pode provocar a produção de tromboxanos e leucotrienos que, em excesso, está associada a doenças como trombozes, arritmias, artrite, asma e psoríase (Rocha, 2008).

Os AGPI ômega 3 diminuem os níveis de triglicerídeos séricos e a tendência para o desenvolvimento da trombose, bem como o risco de doença coronária por outros mecanismos (Oliveira e Vieira, 2004).

Estudos epidemiológicos relataram que a relação ômega 6/ômega 3 preconizada como ideal para a ingestão diária por humanos está entre cinco e 10 (FAO, 1994), valores menores que quarto (DHSS, 1994), ou um e dois de, acordo com o NIH-EUA (Simopoulos, 2002).

### 2.1.2.2. Ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos

O Departamento de Saúde e Segurança Social (DHSS, 1994) recomendou que a razão AGPI/AGS para a dieta humana fosse superior a 0,45. Segundo Santos-Silva et al. (2002), a relação AGPI/AGS é normalmente utilizada para avaliar o valor nutricional do perfil de AG da dieta. Entretanto, esta relação não é adequada para esta avaliação, uma vez que é considerada apenas a estrutura química dos AG, e falha ao atribuir efeitos hipercolesterolêmicos a todos os AGS, ignorando os efeitos hipocolesterolêmicos dos AGMI. Assim, estes autores recomendaram que a melhor maneira de avaliar o valor nutricional do perfil de AG seria a utilização de relações baseadas nos efeitos funcionais dos AG como, por exemplo, a relação entre AG hipocolesterolêmicos (h): hipercolesterolêmico (H).

A relação h/H constitui um índice que considera a atividade funcional dos AG no metabolismo das lipoproteínas de transporte do colesterol plasmático, cujo tipo e quantidade está relacionado com o maior ou menor risco de incidência de doenças cardiovasculares. Na literatura não há valores recomendados para o índice h/H em relação aos produtos lácteos, porém, considera-se como referência o valor 2,0 atribuído aos produtos cárneos (Santos-Silva et al., 2002). Valores superiores a 2,0 correspondem a produtos com composição de AG desejável no aspecto nutricional, pois são compostos, em sua maior parte, de AG hipocolesterolêmicos e, conseqüentemente, reduzem o risco de

doenças cardiovasculares (Assunção, 2007).

### 2.1.2.3. Índices de aterogenicidade e trombogenicidade

Os AG podem promover ou prevenir o aparecimento da aterosclerose e a trombose coronariana com base em seus efeitos sobre o colesterol sérico, e sobre as concentrações de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Ulbricht e Southgate, 1991).

O índice de trombogenicidade (IT) considera os ácidos mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) e esteárico (18:0) como trombogênicos, e os AGPI ômega 6 e ômega 3 e AGMI como antitrombogênicos. Porém, é atribuído aos ácidos graxos ômega 3 maior efeito antitrombogênico que os ácidos graxos ômega 6 e AGPI ômega 3 (Ulbricht e Southgate, 1991).

Os índices de aterogenicidade (IA) e IT indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, isto é, quanto menores os valores de IA e IT maior é a quantidade de AG anti-aterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas (Turan et al., 2007).

Não há valores recomendados para os IA e IT em produtos lácteos, portanto, considera-se que quanto menor for o valor destes índices, mais favorável é o perfil de AG à saúde humana (Sousa Bentes et al., 2009).

Silva-Hernández et al. (2007) trabalharam com vacas que receberam dietas contendo ou não (controle)

semente de girassol (SG) (11,7% da matéria seca). Os IA (1,3) e IT (2,3) foram, respectivamente, 38,4 e 17,8% menores para os produtos originados do leite de vacas suplementadas com SG comparados aos IA (2,1) e IT (2,8) propiciados pela dieta controle.

Lopes et al. (2008) e Ribeiro et al. (2011) determinaram os IA e IT em manteigas oriundas de vacas que receberam níveis crescentes de óleo de soja e girassol na dieta em dietas baseadas em capim elefante. Segundo estes autores houve redução linear ( $P < 0,05$ ) nos IA e IT, demonstrando o potencial destas dietas em permitir a produção de leite mais saudável do ponto de vista de saúde humana.

## 2.2. Ácido linoleico conjugado

### 2.2.1. Caracterização do ácido linoleico conjugado

Nos últimos anos, diversas pesquisas têm sido realizadas com o intuito de alterar a composição da gordura do leite, tornando-a mais adequada ao consumo humano (Gama et al., 2008; Lopes et al., 2008, 2009). Neste sentido, com foco na redução do risco de doenças cardiovasculares, tem-se buscado a diminuição dos teores dos ácidos graxos saturados de cadeia média, como o láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0), e o incremento da concentração do ácido oleico (C18:1 *cis*-9) no leite (Dewhurst et al., 2006).

Tem sido também alvo das pesquisas elevar as concentrações dos ácidos linoleicos conjugados (CLA, do inglês *conjugated linoleic acids*), especialmente o isômero CLA (C18:2

*cis*-9, *trans*-11), principal isômero de CLA presente no leite bovino, cujas propriedades anticarcinogênicas, antiaterogênicas, antidiabetogênicas (diabetes do tipo II) e imunomodulatórias têm sido demonstradas em diversos estudos (Dewhurst et al., 2006; Gama, 2010). O aumento da concentração do ácido vaccênico nos produtos lácteos também é importante, pois foram encontrados 19% de conversão deste em ácido rumênico em humanos (Turpeinen et al., 2002; Wijlen e Colombani, 2010). Além disto, o ácido vaccênico é também o principal precursor para a síntese endógena do ácido rumênico na glândula mamária (Griinari et al., 2000).

O termo ácido linoleico conjugado refere-se a uma mistura de isômeros geométricos (combinações de *cis*-*cis*, *trans*-*cis*, *cis*-*trans* e *trans*-*trans*) e posicionais (dupla ligação nas posições 8 e 10, 9 e 11, 10 e 12 ou 11 e 13) do ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12- Figura 1), em que as insaturações são conjugadas, ou seja, separadas por simples ligação carbono-carbono (Bessa et al., 2000; Collomb et al., 2006).

Esse grupo de compostos foi descoberto, em 1979, por pesquisadores chefiados por Pariza na Universidade de Wisconsin, localizada em Madison (EUA). Estes pesquisadores observaram fatores anticarcinogênicos em hambúrguer grelhado de carne bovina, que foram identificados como isômeros octadecadienoicos do ácido linoleico, ou seja, CLA. Desde então, tem sido objeto de grande número de estudos, representando novo e extenso campo de pesquisa dos AG, por sua relação com a saúde humana (Cook e Pariza, 1998; Funk et al., 2006).

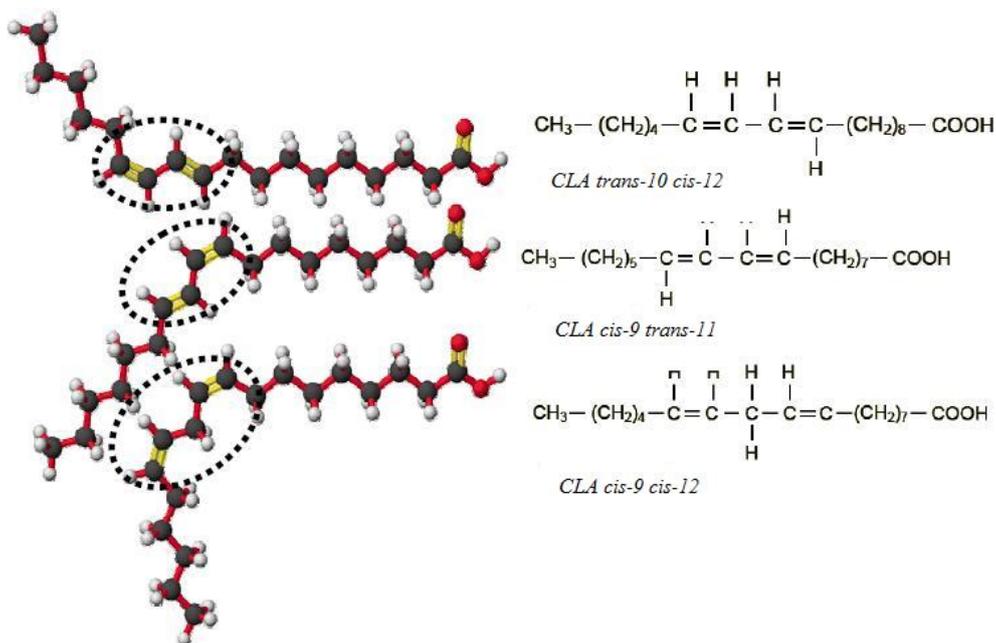


Figura 1. Estrutura dos isômeros de CLA *trans-10, cis-12, cis-9, trans-11* e do ácido linoleico (C18:2 *cis-9, cis-12*)

Fonte: Adaptado de Pariza et al. (2001).

As principais fontes de CLA na dieta humana são os produtos lácteos e outros derivados de ruminantes (Bauman, 2002; Aydin, 2005; Dhiman et al., 2005; Khanal et al., 2005; Wijlen e

Colombani, 2010). Na Tabela 2, tem-se a concentração do CLA em alguns alimentos que normalmente compõem a dieta humana.

Tabela 2. Concentrações de ácido linoleico conjugado total e CLA *cis-9, trans-11* em diferentes alimentos

Alimentos	CLA total (% de gordura)	CLA <i>cis-9, trans-11</i> (% do total de CLA)
Queijo Cheddar	0,40-0,53	78-82
Queijo Cottage	0,45-0,59	83
Queijo Mussarela	0,34-0,50	78-95
Manteiga	0,47-0,94	78-88
Iogurte integral	0,38-0,88	83-84
Iogurte light	0,44	86
Carne bovina moída	0,16-0,43	72-85

Fonte: Adaptado de Dhiman et al. (2005)

O principal isômero conjugado de ácido linoleico, naturalmente encontrado na gordura do leite, é o ácido C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (Parodi, 1977), sendo ainda considerado como o mais biologicamente ativo, haja visto ser aquele preferencialmente incorporado nos fosfolípidios de membranas celulares (Bessa et al., 2000). Kramer et al. (1998) propuseram a designação de “ácido rumênico”, como nome comum para tal isômero, uma clara referência ao local onde inicialmente verificou-se a produção do mesmo, qual seja, o rúmen. Além disso, representa 75 a 90% do total de CLA presente na gordura do leite de ruminantes (Gama, 2010).

#### 2.2.2. Efeitos benéficos do ácido linoleico conjugado

Nos últimos anos, as pesquisas sobre o CLA (*cis*-9, *trans*-11) se intensificaram,

principalmente devido aos potenciais efeitos positivos na saúde humana. Diversos estudos conduzidos *in vivo* com modelos animais e com cultura de células humanas têm demonstrado a capacidade do CLA em inibir o desenvolvimento de certas doenças (Lima Junior et al., 2011).

Diversas propriedades fisiológicas atribuídas aos isômeros de CLA já foram comprovadas, incluindo funções anticarcinogênicas (Ip et al., 2002), antiaterogênicas (Sher et al., 2003), modificações na composição corporal (Park et al., 1997; Blankson et al., 2000; Riséius et al., 2001; Gaullier et al., 2004; Raff et al., 2009), modulação na função imune (Turpeinen et al., 2008). Na Tabela 3 é apresentado um resumo dos efeitos biológicos dos CLAs.

Tabela 3. Resumo dos efeitos biológicos dos de dois principais CLAs

Efeito biológico	Isômeros do CLA		Comentários
	<i>Cis</i> -9 <i>trans</i> -11	<i>Trans</i> -10 <i>cis</i> -12	
Anticarcinogênico	+	+	Modelos animais, epidemiologia
Diminuição na massa corpórea	0	+	Eficiência varia com espécie
Resistência insulínica	0	+ ou -	Depende do estado fisiológico (ratos)
Modulação do sistema imune	?	?	Falta estudo de isômero isolado
Síntese de eicosanóides	-	-	<i>Cis</i> -9 <i>trans</i> -11 > <i>trans</i> -10 <i>cis</i> -12 para prostaglandinas
Pró-inflamatório	-	-	Mesma inibição

Os sinais indicam: efeito presente (+), ausente (0), negativo (-), positivo ou negativo (+ ou -) e desconhecido (?).

Fonte: Adaptado de Martin e Valeile (2002).

O isômero CLA *cis*-9, *trans*-11 tem sido identificado como um potente anticarcinogênico natural (Cook e Pariza, 1998), enquanto o CLA *trans*-10, *cis*-12 atua como eficiente agente repartidor de nutrientes (Park et al., 1997).

Pesquisadores relataram que o CLA *trans*-10, *cis*-12 reduz os efeitos catabólicos da estimulação do sistema imune sem qualquer efeito na resposta imune em camundongos, ratos e pintos (Miller et al., 1994). Além de alterar a composição corporal de animais jovens em crescimento, o isômero CLA *trans*-10, *cis*-12 apresenta efeito sobre o metabolismo dos lipídios, reduzindo o depósito de gordura corporal e a porcentagem de gordura no leite (Park et al., 1997; Griinari et al., 1998).

Segundo Aydin (2005), o isômero CLA *trans*-10, *cis*-12 reduziu significativamente a secreção de apolipoproteína nas células HepG2 quando comparado com o controle de ácido linoléico e o isômero CLA *cis*-9, *trans*-11. Porém, o mecanismo pro meio do qual o isômero CLA *trans*-10, *cis*-12 reduz a atividade da enzima lipoproteína lipase (LPL) é desconhecido (Pariza et al., 2001).

### 2.2.3. Produção do ácido linoleico conjugado total

Parte dos isômeros do ácido linoleico presentes nos produtos de ruminantes é oriunda da incompleta biohidrogenação de AGI dietéticos, realizada por determinadas espécies de bactérias ruminais. Outra parte é sintetizada pela via endógena no tecido intestinal e na glândula mamária pela ação da enzima delta-9-desaturase (Reis et al., 2004).

#### 2.2.3.1. Biossíntese ruminal de ácido linoleico conjugado

Segundo Reis et al. (2004), a biohidrogenação ruminal consiste em uma série de reações de isomerização e hidrogenação dos AG da dieta, tendo como produto final um AGS (Figura 2). Neste mecanismo de produção proposto, o CLA é sintetizado por bactérias ruminais que utilizam o C18:2 *cis*-9, *cis*-12 (ácido linoleico) ou o C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 (ácido  $\alpha$ -linolênico) como precursores (Dhiman et al., 2005).

Segundo Kepler e Tover (1967), o CLA (*cis*-9, *trans*-11) é o primeiro intermediário na biohidrogenação do ácido linoleico dietético, por meio da ação enzimática (*cis*-12, *trans*-11 octadecanodienoato isomerase) da bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens*. Este passo inicial requer, no entanto, prévia lipólise dos galactolipídeos, fosfolipídeos e triglicerídeos da dieta, disponibilizando ácidos graxos não-esterificados com radicais carboxila (-COO<sup>-</sup>) livres (Kepler et al., 1970). Assim, a etapa inicial de isomerização é seguida pela saturação da dupla ligação *cis*-9 por meio da ação da enzima *cis*-9, *trans*-11 linoleatoato redutase (Figura 2). O produto desta redução é o ácido vaccênico (C18:1 *trans*-11), o principal isômero *trans* do leite e tecidos musculares de ruminantes (Bessa et al., 2000).

As rotas de biohidrogenação do ácido oleico no rúmen envolvem a formação do ácido esteárico (C18:0) e de intermediários, como o AG C18:1 *trans*-6 a *trans*-16 (Mosley et al., 2002;

Collomb et al., 2004a, 2004b, 2006;  
Jenkins et al., 2008).

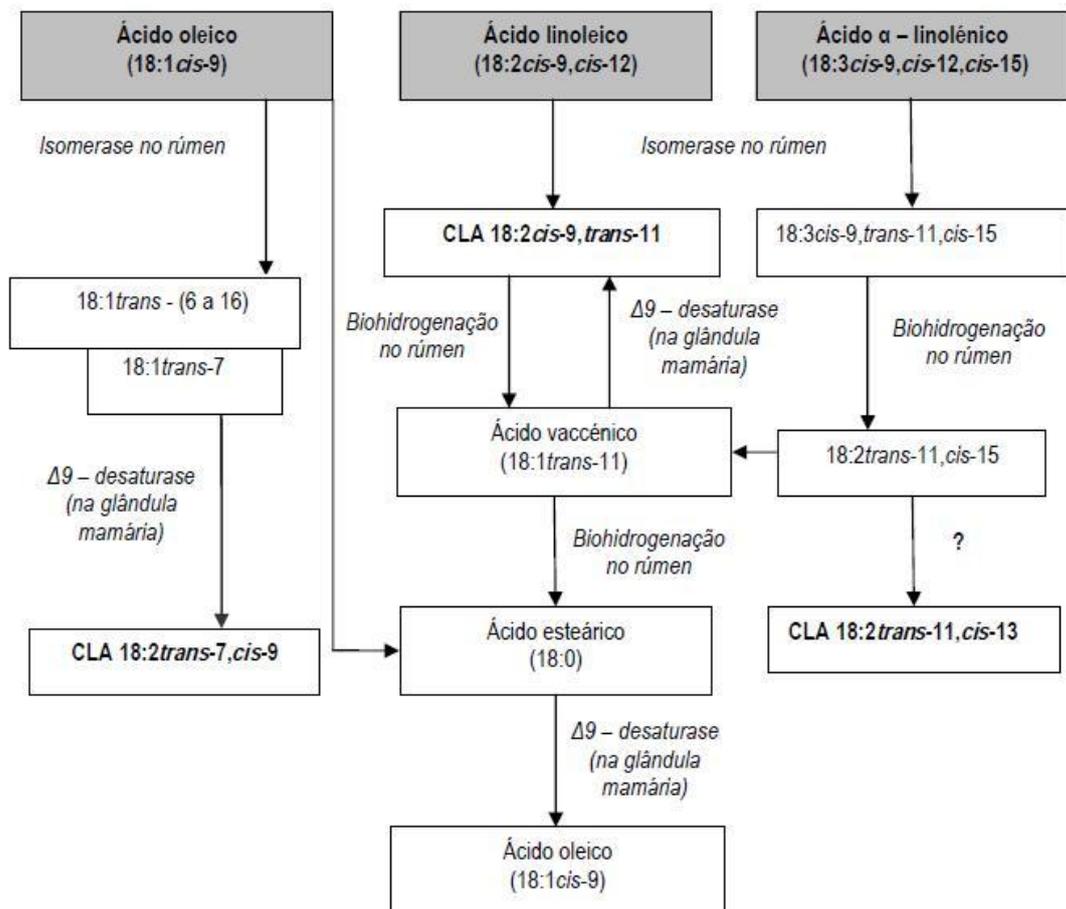


Figura 2. Principais vias metabólicas de formação dos isômeros do CLA no leite  
Fonte: Adaptado de Collomb et al. (2006).

### 2.2.3.2. Produção endógena do ácido linoleico conjugado

O CLA e os ácidos C18:1 *trans*, originados da biohidrogenação no rúmen, passam para o intestino delgado, são absorvidos, são re-esterificados e, então, são liberados na circulação sanguínea (Kalscheur et al., 1997; Looer e Herbein, 1998), da qual podem ser captados pela glândula mamária e incorporados na gordura do leite (Parodi, 1994; Looer e Herbein, 1998). Na glândula mamária o ácido C18:1 *trans*-11 é dessaturado a C18:2 *cis*-9,

*trans*-11, sendo que esta via representa a principal fonte (64%) do CLA *trans*-10, *cis*-12 encontrado no leite (Griinari et al., 2000). Na Figura 2 estão demonstradas as principais vias metabólicas de formação dos isômeros do CLA no leite.

### 2.2.4. Influência da dieta na produção do ácido linoleico conjugado

Segundo Reis et al. (2004) e Gama (2010), a dieta é o fator que mais influencia os níveis de CLA total no

leite e seus derivados produzidos por ruminantes. Os lipídeos das dietas dos ruminantes são provenientes de forragens, grãos e suplementos ricos em óleo. Dentre os alimentos, dietas à base de pasto são ricas em C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 (ácido  $\alpha$ -linolênico), representando 48 a 56% do total de AG. Silagens de milho e de capim são ricas em ácido linoleico (41%) ou ácido  $\alpha$ -linolênico (46%), respectivamente (Dhiman et al., 2005).

Nos processos de fenação e ensilagem podem ocorrer perdas oxidativas de AGPI, principalmente do ácido  $\alpha$ -linolênico (Dewhurst et al., 2006), que nas plantas forrageiras é o principal substrato lipídico para a formação do ácido vaccênico via processos de biohidrogenação no rúmen (Bargo et al., 2006; Elgersma et al., 2006). Por esta razão, o leite de vacas sob pastejo ou recebendo forrageiras frescas apresenta potencialmente maior relação de AGI:AGS, e maiores concentrações totais de AGPI e de CLA (em particular C18:2 *cis*-9, *trans*-11) que o obtido no leite de vacas alimentadas com forragens conservadas (Elgersma et al., 2006)

Trabalhando com vacas manejadas em pastagens formuladas por diferentes gramíneas de clima tropical sem suplementação com concentrados contendo fontes importantes de lipídios, Lopes et al. (2011) observaram potencial destas forrageiras na produção de leite com perfil de AG mais adequado à nutrição humana. Os autores relataram teores de CLA *cis*-9, *trans*-11 de 1,01 g/100 g de AG, valor este dentro da faixa de variação relatada em trabalhos que utilizaram gramíneas de clima temperado, mas suplementadas

com lipídeos, cujos valores eram de 0,72 a 2,64 g/100 g de AG (Dewhurst et al. 2006) e 0,11 a 2,43 g/100 g de AG (Elgersma et al. 2006).

Dietas suplementadas com lipídios na forma de óleos vegetais, como soja e girassol, podem ter maior efeito no aumento da concentração de CLA *cis*-9, *trans* 11 de produtos provenientes de ruminantes (Tanaka, 2005). A adição de ácidos graxos insaturados na dieta de vacas lactantes pode aumentar de forma natural o CLA *cis*-9 *trans* 11 e diminuir o teor de gordura no leite, melhorando assim a imagem dos produtos lácteos junto ao consumidor, uma vez que este está preferindo os alimentos que possuem menor teor de gordura (Santos et al., 2001).

As concentrações do CLA *cis*-9, *trans*-11 e ácido vaccênico possuem correlação positiva no leite de vacas sob as mais diversas situações de manejo alimentar (Lawless et al., 1998, 1999). Para elevar a concentração de CLA *cis*-9, *trans* 11 na gordura do leite, deve-se prover o rúmen de substratos ricos nos ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico (Grinari et al., 2000)

Por outro lado, fontes vegetais ricas em ácido oleico também apresentam potencial para alterar positivamente o perfil da gordura do leite, embora em menor escala quando comparadas com aquelas ricas em ácido linoleico (Collomb et al., 2004a, 2004b). Vários trabalhos relataram que os maiores potenciais dos óleos ricos em ácido linoleico promoverem incrementos nos teores de CLA *cis*-9, *trans*-11 no leite de vacas, comparado a outras fontes de lipídios (Dhiman et al., 1997; Kelly et

al., 1998; Collomb et al., 2004a, 2004b; Lopes et al., 2009).

### 2.3. Óleo de girassol

O óleo de girassol (*Helianthus annuus* L) é obtido por meio de sua extração da semente de girassol. Mais de 50% da composição em AG deste óleo é constituída por ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12), seguidos por oleico (C18:1 *cis*-9), palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) (Oliveira, 2008). O óleo de girassol (OG) possui cerca de 65% de AGPI, sendo que, aproximadamente, 63% destes AG são de cadeia n-6 (Baucells et al., 2000).

Existem variações no perfil de AG do óleo entre cultivares de girassol. Jorge e Gonçalves (1998) relataram que o OG convencional (alto teor de ácido linoleico) e aquele com alto teor de ácido oleico apresentaram, respectivamente, 66,7 e 17,9% de ácido linoleico e, 20,3 e 71,8% de ácido oleico.

Collomb et al. (2004b) observaram perfil de AG mais adequado à saúde humana no leite de vacas recebendo dieta suplementada com OG, linhaça ou canola quando comparado ao daquelas não suplementadas com óleos vegetais. Dentre as fontes de lipídios, o OG propiciou as maiores concentrações para os AGPI e AGMI e a menor para os AGS.

Kelly et al. (1998) avaliaram o perfil de AG do leite de vacas que receberam dieta suplementada com OG, amendoim (OA) ou linhaça (OL), contendo, respectivamente, elevados teores dos ácidos linoleico, oleico e  $\alpha$ -linolênico. As concentrações de CLA *cis*-9, *trans*-

11 foram de 2,44; 1,33; e 1,67 mg/100 g de AG, respectivamente, para o leite das vacas que receberam OG; OA e OL. Estes resultados demonstraram o grande potencial do OG em alterar positivamente o perfil de AG do leite de vaca.

O aumento da concentração do CLA total de 5 para 41 mg/g de AG em manteigas foi observado quando vacas receberam suplementação de OG (69% de ácido linoleico) na dieta (5,2% da MS) comparado às oriundas do leite de vacas que não foram suplementadas com OG. O CLA *cis*-9, *trans*-11 correspondeu a 91% da concentração do CLA total (Bauman et al., 2000).

Os efeitos positivos da suplementação do OG sobre a concentração do CLA *cis*-9, *trans*-11 no leite (e/ou em seus derivados) de vacas foram relatados (Ribeiro et al., 2011). Porém, trabalhos que reportam estes efeitos em dietas contendo OG associado à cana-de-açúcar são escassos.

### 2.4. Oxidação lipídica

#### 2.4.1. Oxidação de lipídios em alimentos

Oxidação lipídica é o termo utilizado para descrever uma sequência de alterações químicas resultantes da interação de lipídeos com o oxigênio (McClements e Decker, 2010).

Os principais problemas decorrentes da oxidação dos lipídios são as alterações sensoriais que resultam em sabor e aroma desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para o consumo. A oxidação também pode acarretar perdas de AGPI, das vitaminas A, D, E e K, de carotenoides, de fitoesteróis e de

outros antioxidantes. Além disso, pode haver danos aos aminoácidos e, conseqüentemente, às proteínas, com redução em sua solubilidade (Prado, 2008).

Os mecanismos de ação da oxidação dos AG em alimentos são diversos, sendo extremamente complexos e estão relacionados com o tipo de estrutura lipídica e o meio onde o lipídio se encontra. O número e a natureza das insaturações, o tipo de interface entre os lipídios e o oxigênio (fase lipídica contínua, dispersa ou em emulsão), a exposição à luz e ao calor, a presença de pró-oxidantes ou antioxidantes são fatores determinantes para a estabilidade oxidativa dos lipídeos (Frankel et al., 1994).

A oxidação pode também ocorrer por via enzimática. Esta ocorre pela ação das enzimas lipoxigenases que atuam sobre os AGPI, catalisando a adição do oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada. Como resultado tem-se a formação de peróxidos e hidroperóxidos que podem ser degradados dando origem a moléculas (cetonas e aldeídos) de sabor e odor desagradáveis (Silva et al., 1999).

#### 2.4.2. Fatores que afetam a oxidação dos lipídios

A oxidação dos lipídios é influenciada pela composição de AG, processamento, energia térmica, tipo e concentração de oxigênio, presença de AG livres, mono e diacilgliceróis, metais de transição, peróxidos, compostos oxidados termicamente, pigmentos e antioxidantes (Choe e Min, 2006).

##### 2.4.2.1. Composição de ácidos graxos

Os lipídios dos alimentos contêm extensa variedade de AG, que diferem pelas propriedades químicas e físicas, como também na susceptibilidade à oxidação. Além disso, numerosos componentes não-lipídicos presentes podem co-oxidar ou interagir com os lipídios ou seus produtos de oxidação (Mendonça, 2009).

A variação do número, da posição e da geometria das duplas ligações afeta a taxa de oxidação, sendo mais rápida em AGMI e AGPI (Nawar, 2000; Choe e Min, 2006). Já a presença de AG livres acelera o processo de oxidação, uma vez que estes oxidam mais rapidamente que os acilgliceróis correspondentes. Além disso, quando presentes em grandes quantidades, podem facilitar a incorporação de traços de metais dos equipamentos ou dos tanques de estocagem (Mendonça, 2009).

##### 2.4.2.2. Oxigênio

A quantidade e disponibilidade de oxigênio afetam a oxidação dos lipídios, que ocorre com maior frequência quando o lipídio, oxigênio e catalisadores estão em contato. Esse parâmetro é afetado pela área superficial que os AG são expostos, aumentando a oxidação com o maior contato com o ar (Choe e Min, 2006).

A solubilidade do oxigênio é maior em óleo que na água. Quando o oxigênio é abundante, a velocidade da oxidação é independente de sua concentração, mas em concentrações baixas a velocidade é, aproximadamente, proporcional a sua concentração. O efeito da concentração de oxigênio na oxidação é aumentado

em altas temperaturas e na presença de luz ou de metais como o cobre e o ferro (Nawar, 2000; Choe e Min, 2006; Araujo, 2008).

#### 2.4.2.3. Temperatura

Em geral, a taxa de oxidação aumenta com o incremento da temperatura. A temperatura também influencia a relação entre a quantidade e a pressão parcial de oxigênio (Mendonça, 2009).

Os processos que utilizam temperaturas elevadas como a pasteurização e a esterilização aceleram a velocidade de reação. A refrigeração e/ou congelamento não paralisam a oxidação devido ao fato da solubilidade do oxigênio em solução aquosa aumentar em baixas temperaturas (Araujo, 2008).

#### 2.4.2.4. Atividade de água (AW)

A quantidade de água disponível para reações presente na matriz pode afetar a estabilidade oxidativa dos lipídios (Silva et al., 1999).

O valor de AW depende da composição, da temperatura e do teor de umidade do produto. Este valor influencia certas características de qualidade de um produto, tais como: as características biológicas (crescimento de microrganismos); a porcentagem de proteínas e vitaminas; as características sensoriais como cor, odor e sabor; a estabilidade da composição; a reação à umidade ambiental e temperatura; a solubilidade ou a textura e a durabilidade (Silva, 2004).

#### 2.4.2.5. Luz

A luz visível e ultravioleta promotores efetivos da oxidação. Durante esse processo, os fotossensores absorvem energia luminosa e transferem o excesso de energia para o oxigênio triplete ( $^3\text{O}_2$ ) convertendo-o a singlete ( $^1\text{O}_2$ ) (Nawar, 2000).

#### 2.4.3. Mecanismos de oxidação

A degradação oxidativa dos AG insaturados pode ocorrer por várias vias, em função do meio e dos agentes catalisadores (Silva et al., 1999).

##### 2.4.3.1. Autoxidação

A autoxidação é uma reação de baixa energia de ativação, bastante complexa, que abrange um grande número de reações interrelacionadas, não sendo inibida pela diminuição da temperatura de armazenamento (Araújo, 2008).

Embora os AGI possam reagir com o oxigênio, a susceptibilidade de lipídios à oxidação é maior em AGMI e, principalmente, em AGPI. AG contendo um ou mais pentadienos não conjugados ( $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ ) são especialmente sensíveis, pois o ataque do oxigênio ocorre, principalmente, nas posições adjacentes às duplas ligações (Mendonça, 2009).

O processo de oxidação se inicia na ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia de carbono e pode ser catalisada por um grande número de fatores, especialmente ambientais (umidade, temperatura luz e oxigênio), presença de metais (cobre, ferro e manganês), e de enzimas e pigmentos (Pinho, 2005; Piedade, 2007). O processo de autoxidação pode

ser explicado em três fases: iniciação, propagação e terminação (Farmer et al., 1942).

A iniciação, representada na reação (Figura 3), é caracterizada pela formação de radicais ( $R\bullet$ ) das moléculas de lipídeos (RH). A reação inicial ocorre pela remoção do átomo de

hidrogênio do grupo metileno ( $-\text{CH}=\text{CH}- \rightarrow -\text{CH}=\text{C}\bullet-$ ), a partir de iniciadores ( $X\bullet$ ), como os radicais alquil, alcoxil, hidroxil, peróxido, além de hidroperóxido e clivagens térmicas e fotoquímicas (Araújo, 2008).

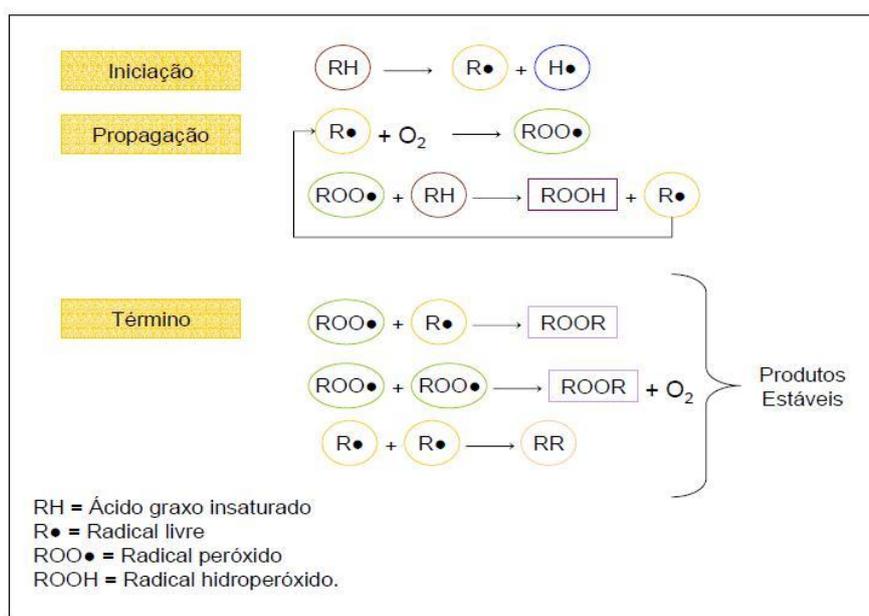


Figura 3. Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica

Fonte: Ramalho e Jorge (2006).

O radical lipídico é altamente reativo podendo reagir com o oxigênio atmosférico ( $^3\text{O}_2$ ), produzindo um radical peroxil ( $\text{ROO}\bullet$ ). Nas reações de propagação, o radical peroxil ( $\text{ROO}\bullet$ ) reage com outra molécula de lipídio insaturado para formar um hidroperóxido e um novo radical lipídico instável. Como um novo radical livre é gerado a cada passo, mais oxigênio é incorporado no sistema, resultando em mecanismo de reação cíclica. Hidroperóxidos são instáveis e podem ser degradados para radicais que

aceleram a reação de propagação. A terminação envolve a reação entre radicais livres para formar produtos estáveis (produtos secundários da oxidação). A autoxidação pode quebrar moléculas, formar novos compostos, causando mudanças nas propriedades químicas e físicas do substrato oxidado. A degradação de hidroperóxidos pode gerar novas moléculas como os aldeídos, alcoóis e hidrocarbonetos, de odor e sabor desagradáveis e, ocasionar o surgimento da rancidez oxidativa do lipídeo (Prado, 2008).

#### 2.4.4. Oxidação lipídica e prejuízos nutricionais

São diversas as consequências nutricionais da oxidação lipídica (Kirk, 1984; Ferrari, 1998), dentre elas:

- destruição parcial dos AG linoleico e linolênico;
- destruição parcial das vitaminas A, carotenóides e tocoferóis; destruição parcial da vitamina C (co-oxidação);
- formação de produtos secundários da oxidação lipídica (malonaldeído e outros compostos);
- formação de compostos de *Maillard*, capazes de reagir com biomoléculas (especialmente proteínas), diminuindo a absorção destas;
- irritação da mucosa intestinal por peróxidos, ocasionado quadros de diarreia e, conseqüentemente, reduzindo a capacidade de absorção de nutrientes;
- formação de lipídios oxidados que são antagonistas de diversos nutrientes, como tiamina, pantotenato de cálcio, riboflavina, ácido ascórbico, vitamina B12, tocoferóis, vitamina A, proteínas, lisina e aminoácidos sulfurados.

2.4.5. Determinação do estado oxidativo A estabilidade oxidativa, método para avaliação de qualidade de óleos e gorduras, não depende apenas da composição química, mas também da qualidade da matéria-prima, condições a que o produto é submetido durante o processamento e das condições de estocagem. Além destes fatores, a estabilidade oxidativa é influenciada também pelo teor de fosfolipídios e pigmentos no óleo, e das condições do

processo de desodorização (Antoniassi, 2001).

O Índice de Estabilidade Oxidativa do Óleo (OSI), método Cd 12b-92 (AOCS, 1992), constitui a versão automatizada do Active Oxygen Method (AOM) e é determinado nos equipamentos Rancimat<sup>®</sup> produzidos pela Metrohm (Herisau, Suíça) e Oxidative Stability Instrument (Omniom) (Coppin e Pike, 2001). Diferente do AOM, estes equipamentos medem mudanças na condutividade que são causadas por compostos voláteis orgânicos e iônicos, automática e continuamente (Mendonça, 2009). Um fluxo de ar passa através do óleo mantido sob aquecimento em temperatura elevada. Sob estas condições de aceleração da oxidação, os processos oxidativos alcançam etapas finais e ácidos voláteis de cadeia curta são produzidos e conduzidos para borbulhar em água deionizada, solubilizando e, conseqüentemente, aumentando a condutividade elétrica da água (Figura 4), que é medida automaticamente ao longo do tempo (Antoniassi, 2001; Shiota e Tatsumi, 2002).

Antoniassi (2001) relatou que a partir da curva de condutividade elétrica *versus* tempo são construídas duas curvas paralelas que interceptam num ponto que corresponde, na escala de tempo, ao período de indução ou índice de estabilidade oxidativa. Abaixo deste ponto, praticamente não existe formação de compostos secundários de oxidação, enquanto que acima do mesmo ocorre rápido aumento da taxa de oxidação, do índice de peróxido, da absorção de oxigênio e da formação de compostos voláteis (Figura 5). O tempo de indução obtido da curva é boa

indicação não apenas da capacidade de conservação, mas também do estado momentâneo da qualidade da gordura (Regitano-D'arce, 2006).

O período de indução é o tempo decorrido, em horas, desde o momento

em que a amostra adquire a temperatura de ensaio até aquele em que os produtos de oxidação começam a desenvolver-se exponencialmente (Antoniassi, 2001).

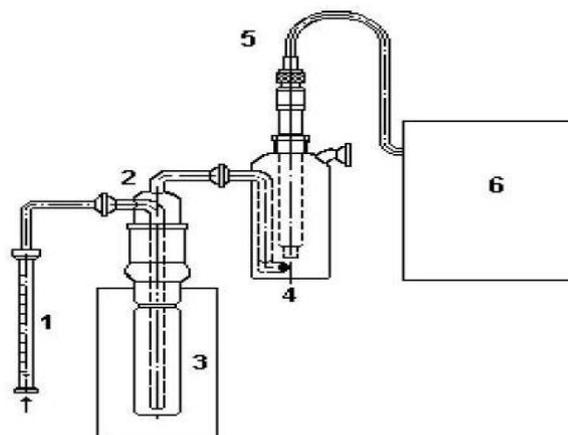


Figura 4. Esquema de funcionamento do Rancimat<sup>®</sup>

1 = rotâmetro; 2 = vaso de reação; 3 = bloco de aquecimento; 4 = vaso de recepção dos voláteis; 5 = eletrodo de platina; 6 = amplificador do sinal de condutividade elétrica.

Fonte: Antoniassi (2001).

Apesar das vantagens apresentadas pelo Rancimat<sup>®</sup> em relação ao método AOM oficial, tais como a redução de trabalho e no consumo de reagentes, a limpeza

da vidraria tem sido relatada como fator crítico para reprodutibilidade dos resultados (Antoniassi, 2001).

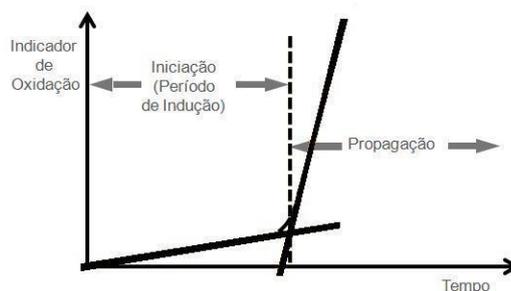


Figura 5. Esquema da determinação da estabilidade oxidativa por meio de Rancimat<sup>®</sup>

Adaptado de: Silva et al. (1999).

#### 2.4.5.1. Efeito da insaturação sobre a estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa de produtos ricos em AG ômega 3 é, principalmente, devido ao seu alto grau de insaturação. Além disso, a oxidação dos lipídios ricos em AGPI pode ser determinada também pela organização estrutural destes ácidos graxos em triacilgliceróis e outros lipídios (Eldin et al., 2002).

A adição de 400 mL diários de óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras alterou o perfil de AG do leite de vacas, aumentando os teores de AGPI, e também acelerando o processo de oxidação do leite (Cardozo, 2011).

A auto-oxidação dos lipídios em produtos lácteos e, conseqüentemente, o ranço originado deste processo são relatados na literatura. Mallia et al. (2008) relataram a identificação de alguns compostos no ranço da manteiga resfriada e sugeriram os ácidos linoleico, linolênico e araquidônico como precursores destes compostos. Por outro lado, os padrões de auto-oxidação de CLA ainda não são bem conhecidos e poucos estudos indicam os produtos secundários da auto-oxidação do CLA.

Segundo Mallia et al. (2008), o enriquecimento da gordura do leite com CLA total e AGI confere maior valor nutritivo aos produtos lácteos. Por outro lado, estes componentes são passíveis de auto-oxidação. As oxidações destes AG podem também levar à formação de produtos secundários, tais como hidrocarbonetos, aldeídos e cetonas, alterações do sabor e, conseqüentemente, redução da vida útil dos produtos lácteos.

Os lipídeos do leite são protegidos contra a oxidação por antioxidantes naturais. Entre as enzimas antioxidantes, a glutatona peroxidase atua sobre os hidroperóxidos. Durante a decomposição destes ocorre formação dos produtos secundários da oxidação, e alguns desses compostos são voláteis e responsáveis pela formação de odores e/ou gostos indesejáveis. A atividade da enzima depende da bio-disponibilidade do mineral que, por sua vez, é dependente da fonte utilizada (Mallia et al., 2008).

#### 2.5. Manteiga

Entende-se como manteiga o produto gorduroso obtido exclusivamente pela bateção e malaxagem, com ou sem modificação biológica de creme pasteurizado derivado exclusivamente do leite de vaca, por processo tecnologicamente adequado. A matéria gorda da manteiga deverá estar composta exclusivamente de gordura láctea (Brasil, 1996).

De acordo com a Portaria nº 146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 1996), que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos (RTIQ), a gordura do leite deve ser a única gordura presente na manteiga. A manteiga é uma emulsão de gordura em óleo. A gordura, fase contínua, determina principalmente as características físicas da manteiga e corresponde à proporção de 80 a 85% de sua composição. Cerca de 52% dessa gordura é saturada, 25% monoinsaturada e 3% poli-insaturada. O restante de sua composição é formado por sólidos não-gordurosos do leite e

soro, que contem proteínas e minerais. Pode ainda conter ou não sal em quantidade que varia entre 0,8 e 2,0%. A manteiga possui elevado valor calórico, que oscila entre 7,0 e 7,9 kcal/g (Rodrigues, 2006).

O leite é uma alimento excelente e indiscutível do ponto de vista nutricional. No entanto, nas últimas décadas foi substituído pelos adultos pro produtos com menor teor de AGS. Parte dos consumidores de produtos lácteos passaram a acreditar que toda “gordura” contida nos produtos de origem animal causasse doenças cardiovasculares e tumorigênese (Silva-Hernandez et al., 2007).

Entretanto, recentes estudos têm contribuído para a reavaliação dos produtos lácteos, devido aos potenciais benefícios que podem ser conseguidos por meio da alteração do perfil de AG do leite de vacas, principalmente, o aumento das concentrações dos ácidos CLA *cis*-9 *trans*-11, vaccênico e oleico e redução dos AGCM láurico, mirístico e palmítico (Lopes et al., 2009; Gama, 2010; Ribeiro et al., 2011).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho de campo, da produção do leite à obtenção das manteigas foi realizado no período de 26 de agosto a 28 de outubro de 2009 no Campo Experimental de Coronel Pacheco, de propriedade da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Coronel Pacheco (MG). As análises do perfil de ácidos graxos das manteigas foram feitas no Laboratório de Cromatografia da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG). As análises de umidade, cor, acidez titulável e estabilidade

oxidativa foram realizadas no Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG (Belo Horizonte, MG). Os teores de gordura da manteiga foram determinados no Laboratório de Físico-Química I do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da UFMG (Belo Horizonte, MG).

#### 3.1. Material

##### 3.1.1. Amostras

###### 3.1.1.1. Animais e tratamentos

Foram utilizadas doze vacas Holandês x Gir após o pico da 3<sup>a</sup> ou 4<sup>a</sup> lactação, com produção média de 16 kg/dia a 20 kg/dia de leite, distribuídas em delineamento com três Quadrados Latinos (QL) 4 x 4, contemporâneos. Cada fase do QL foi constituída por período de adaptação à dieta de 10 dias, e de um dia para coleta de amostras/dados.

Após análise dos ingredientes, as dietas experimentais foram formuladas segundo o NRC (2001) para serem isoproteicas (Anexo 1). As vacas foram alojadas em curral do tipo “*Free Stall*” com camas individuais de areia e foram alimentadas individualmente em cochos equipados com portões eletrônicos do tipo *calan-gate* (American Calan Inc., Northwood, NH, EUA). As dietas foram fornecidas como mistura total, uma vez ao dia, após a ordenha da manhã, sendo preparadas em vagão misturador semi-automatizado e computadorizado (Dataranger<sup>®</sup>, American Calan Inc., Northwood,

EUA), de modo a permitir, aproximadamente, 10% de sobras.

Os tratamentos foram constituídos de quatro níveis de inclusão de óleo de girassol em dietas baseadas em cana-de-açúcar picada com base na matéria seca (MS):

T0 -controle: cana-de-açúcar picada sem adição de óleo de girassol (OG);

T1,5 -cana-de-açúcar picada + 1,5% de OG;

T3,0 -cana-de-açúcar picada + 3,0% de OG;

T4,5 -cana-de-açúcar picada + 4,5% de OG.

A composição centesimal e química das dietas experimentais, perfil de ácidos graxos dos tratamentos e do óleo de girassol estão demonstrados nos anexos 1 e 3.

A composição do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com níveis crescentes de óleo de girassol (OG) na matéria seca da dieta estão demonstrados no anexo 2.

### 3.1.2. Reagentes

Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico, exceto os utilizados na cromatografia que eram de grau cromatográfico. O padrão para ácidos graxos eram de grau analítico.

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Produção da manteiga

Ao final de cada ordenha, todo o leite obtido foi acondicionado em quatro latões, com capacidade de 50 L cada,

previamente identificados por tratamento (T0; T1,5; T3,0; T 4,5%). Os latões foram transferidos para o local de fabricação da manteiga, onde o leite foi transferido para recipientes menores, aquecido a 45 a 50 °C e, em seguida, passado por desnatadeira elétrica (modelo 18GR, Casa das Desnatadeiras, Goiânia, GO) para separação do creme. Os cremes produzidos foram submetidos a processo de pasteurização lenta, a 65 a 68 °C, durante 30 min.

As manteigas foram produzidas por processo semi artesanal (Figura 6), descrito por Gonzalez et al. (2003) no primeiro dia de coleta de cada fase do QL sendo obtida uma manteiga por tratamento em cada fase do QL, totalizando 16 manteigas.

Durante a fabricação das manteigas, não houve a adição de sal, fermentos lácticos e corantes. Durante o processo de malaxagem, a manteiga foi lavada com água fria e, depois de retirado o excesso de água, foi armazenada (-30 °C) em potes plásticos transparentes. Estes potes foram vedados com cuidado para não haver entrada de ar, sendo devidamente pré-identificados quanto à data e tratamento.

As manteigas foram analisadas quando o perfil de AG, determinação da estabilidade oxidativa, teor de acidez, umidade, gordura e cor.

## 3.3. Métodos de análises

### 3.3.1. Perfil de ácidos graxos

O perfil de AG das manteigas foi determinado em cromatógrafo de fase gasosa, modelo 6890N (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, Califórnia, EUA) com detector de

ionização de chama e *software* Agilent ChemStation (Agilent Technologies Inc, EUA), utilizando-se coluna capilar de sílica fundida modelo CP-Sil-88 Fame, de 100 m x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,2 mm de fase estacionária de ciano-propil siloxano (Supelco Inc, Bellefonte, PA, EUA). As condições utilizadas na corrida foram: fluxo de gás carreador 1 mL/min, gradiente de

temperatura do forno temperatura inicial 45 °C mantida por 4 min, taxa de incremento de 13 °C/min até 175 °C permanecendo por 27 min e por fim a temperatura do forno aumenta até 215 °C a uma taxa de 4 °C/min permanecendo nesta durante 35 min, razão de *split* 1:50 (Cruz-Hernandez et al., 2007).

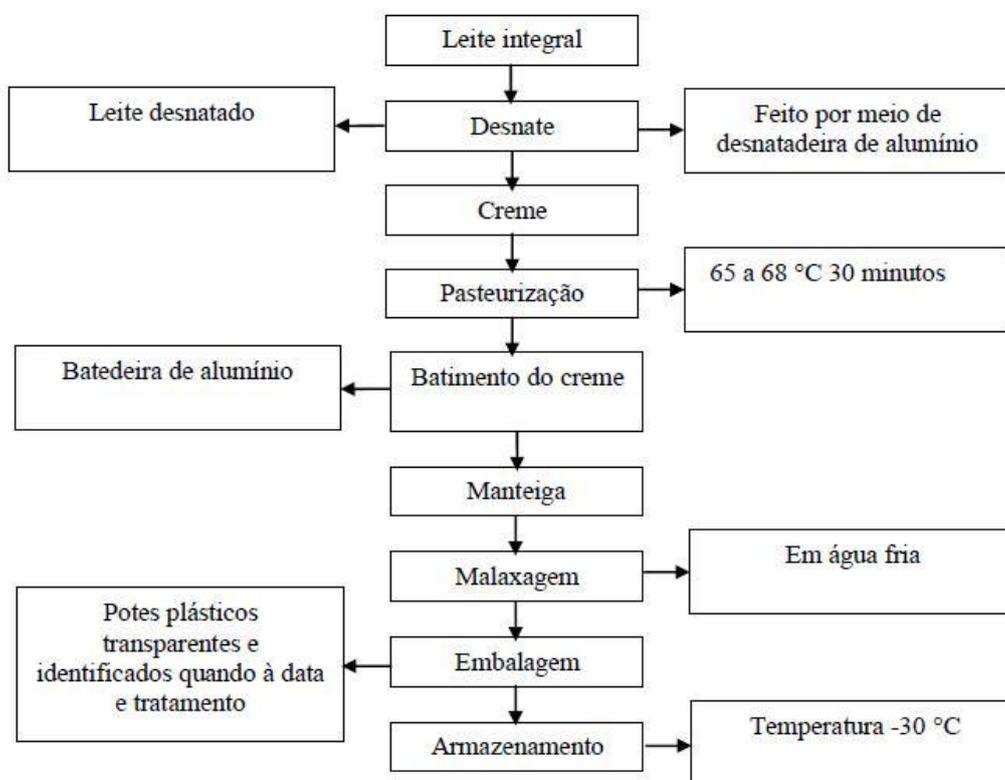


Figura 6. Fluxograma do processo de obtenção da manteiga.

As frações lipídicas das amostras foram previamente extraídas em solução de hexano-isopropanol (3:2), conforme descrito por Hara e Radin (1978). Antes da injeção no cromatógrafo, os extratos foram metilados em solução

básica de metóxido de sódio (Christie, 1982).

Os principais AG foram identificados por comparação com os tempos de retenção observados em padrões comerciais da Sigma-Aldrich Co. (Supelco, Bellefonte, EUA) e a

quantificação foi feita pela correção dos picos a uma área de 100%.

### 3.3.2. Determinação da qualidade nutricional

Após a quantificação de todos os AG, foi feita a avaliação nutricional da gordura das manteigas, com base em índices nutricionais recomendados pelos organismos oficiais de saúde: FAO, *Canadian Recommended Nutrient Intake* (CRNI) e pelo *Institute of Medicine of the National Academies of Sciences* dos EUA (IMNAS).

Foram calculados os índices de aterogenicidade e trombogenicidade, a razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos e a relação dos ácidos graxos poli-insaturados ômega 6/ômega 3.

#### 3.3.2.1. Índices de aterogenicidade e trombogenicidade

O índice de aterogenicidade (IA) foi calculado pela seguinte equação (Ulbricht e Southgate, 1991):

$$IA = [(C12:0) + (4 \times C14:0) + (C16:0)] / [(AGPI n-6 + AGPI n-3) + AGMI]$$

sendo, C12:0, C14:0 e C16:0, respectivamente, os ácidos láurico, mirístico e palmítico; AGMI representa a soma das concentrações de todos os AG monoinsaturados; AGPI ômega 6 e ômega 3, a soma das concentrações dos AG poli-insaturados ômega 6 (C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:2 *cis*-9, *trans*-12; C18:2 *trans*-10, *cis*-12; C20:2 *cis*-11, *cis*-14; C20:3 n-6; C20:4n-6) e AG poli-insaturados ômega 3 (C18:3n-3 isômeros; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15), respectivamente.

isômeros; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15), respectivamente.

O índice de trombogenicidade (IT) foi calculado a partir da equação (Ulbricht e Southgate, 1991):

$$IT = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times AGMI) + (0,5 \times AGPI n-6) + (3 \times AGPI n-3) + (AGPI n-3 / AGPI n-6)]$$

sendo, C14:0, C16:0 e C18:0, respectivamente, os ácidos mirístico, palmítico e esteárico; AGMI representam a soma das concentrações de todos os AG monoinsaturados; AGPI ômega 6 e ômega 3, a soma das concentrações dos AG poli-insaturados ômega 6 (C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:2 *cis*-9, *trans*-12; C18:2 *trans*-10, *cis*-12; C20:2 *cis*-11, *cis*-14; C20:3 n-6; C20:4n-6) e AG poli-insaturados ômega 3 (C18:3n-3 isômeros; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15), respectivamente.

#### 3.3.2.2. Razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos

Este índice foi determinado pela seguinte equação (Santos - Silva et al., 2002):

$$h/H = C18:1 \text{ cis-9} + C18:1 \text{ trans-15} + AGPI n-6 + AGPI n-3 / C12:0 + C14:0 + C16:0$$

sendo que: h representa os AG hipocolesterolêmicos [C18:1 *cis*-9 + C18:1 *trans*-15; AGPI n-6 e n-3 a soma dos AG poli-insaturados ômega-6 (C18:2 *cis*-9, *cis*-12; C18:2 *cis*-9, *trans*-12; C18:2 *trans*-10, *cis*-12; C20:2 *cis*-11, *cis*-14; C20:3 n-6; C20:4n-6) e ômega 3 (C18:3n-3 isômeros; C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15)] e H representa os

AG saturados hipercolesterolêmicos (C12:0; C14:0 e C16:0).

### 3.3.2.3. Relação dos ácidos graxos poli-insaturados ômega 6/ômega 3

Este índice foi determinado pela seguinte equação (Martin et al., 2006):

$$\text{AGPI } \omega 6 / \omega 3 = (18:2 \text{ cis-9, trans-12} + 18:2 \text{ cis-9, cis-12} + 18:2 \text{ trans-10, cis-12} + \text{C20:0 cis-11, cis-14} + \text{C20:3n-6} + \text{C20:4n-6}) / (\text{C18:3 n-3 isômeros} + \text{C18:3 cis-9, cis-12, cis-15})$$

sendo, AGPI ômega 6/ ômega 3= somatório das concentrações dos AG poli-insaturados ômega-6 e ômega -3, respectivamente.

### 3.3.3. Determinação da estabilidade oxidativa

Aproximadamente após seis meses após a produção da manteiga foi determinado à estabilidade oxidativa das manteigas foi avaliada por meio do aparelho Rancimat<sup>®</sup> modelo 743. Após descongeladas, as amostras de manteigas (aproximadamente 20 g) foram aquecidas em tubos de vidro apropriados em estufa a 40 °C, até que houvesse a separação de fases (líquida e oleosa). Imediatamente após o aquecimento, foram filtradas em papel de filtro qualitativo e pesados 5 g de matéria oleosa em tubos de ensaio.

No aparelho Rancimat<sup>®</sup> modelo 743, as amostras de matéria oleosa, em duplicata, foram analisadas à temperatura de 120 °C, com fluxo de ar de 20 L/h e 60 mL de água Milli-Q para recepção dos ácidos voláteis. O tempo de permanência das amostras no aparelho foi igual ao respectivo tempo

de oxidação. Foram obtidas, automaticamente, curvas de condutividade *versus* tempo e os períodos de indução à oxidação (Metrohm, 2008).

A vidraria utilizada para o estudo da estabilidade oxidação foi rigorosamente lavada com detergente alcalino entre as análises para evitar qualquer contaminação que pudesse interferir nos resultados.

### 3.3.4. Caracterização físico-química e determinação da cor da manteiga

Foram analisados teores de umidade, acidez, gordura e a determinação da cor. Para a realização das análises físico-químicas as manteigas foram descongeladas à temperatura ambiente (25 °C) e retiradas frações aleatórias da mesma.

#### 3.3.4.1. Determinação do teor de umidade

Os teores de umidades foram determinados de acordo com Brasil (2006). Cápsulas de porcelana, dotadas de bastões e contendo 25 g de areia, respectivamente, identificadas para cada amostra de manteiga, foram colocadas em estufa à temperatura de 102 °C ± 2 °C durante 1 h. Após este tempo, foram colocadas em dessecador para resfriamento por tempo mínimo 45 min. Imediatamente após, as cápsulas foram pesadas e a elas foram adicionadas 5 g das respectivas amostras de manteiga. Estas amostras foram misturadas com a areia, utilizando-se os respectivos bastões.

As cápsulas foram colocadas em estufa (102 °C ± 2 °C), e após 3 h foram retiradas e, imediatamente resfriadas em dessecador por, no mínimo, 45 min. Após resfriadas, foram anotadas as massa contidas nas cápsulas. Novamente, repetiu-se esta operação, desta vez com as cápsulas permanecendo na estufa por 30 min e assim, sucessivamente, até que se obtivesse a massa constante da cápsula. As amostras foram analisadas em duplicata.

Para o cálculo do teor de umidade foi utilizada a seguinte fórmula (Brasil, 2006):

$$\% \text{ Umidade} = M \times 100/M'$$

sendo M a perda de massa, em gramas e M' a massa da amostra, em gramas.

#### 3.3.4.2. Determinação da acidez titulável

A acidez titulável foi determinada de acordo com Brasil (2006). Amostras de manteigas (~20 g) foram colocadas em béquer e fundidas em estufa (40 a 50 °C), até que houvesse a separação de fases (líquida e oleosa). Em seguida, a matéria oleosa foi filtrada em papel de filtro qualitativo, recebendo em outro béquer. Foram pesados 5 g do óleo filtrado, em béquer de 250 mL e adicionados 40 mL da solução álcool etílico + éter etílico (1+2) e, posteriormente, acrescentado cinco gotas de solução indicadora de fenolftaleína a 1%.

As amostras de óleo foram tituladas contra solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L, até leve coloração rósea, persistente por 15 a 20 segundos. As amostras foram analisadas em triplicata.

Para o cálculo da acidez foi utilizada a seguinte fórmula (Brasil, 2006):

$$\text{Solução alcalina normal (SAN) \%} = V \times f \times N \times 100/m$$

sendo V o volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L gasto na titulação, em mL; f o fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L; N a normalidade da solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L e m a massa da gordura, em gramas.

#### 3.3.4.3. Determinação do teor de gordura

Os teores de gordura foram determinados de acordo com Brasil (2006). Aproximadamente 5 g de amostra de manteiga, em duplicatas, foram pesados e homogeneizados diretamente no copo do butirômetro específico para manteiga, sendo completamente vedadas com tampas. Adicionou-se 5 mL de água e, em seguida, 10 mL de ácido sulfúrico com densidade de 1,820 g.L<sup>-1</sup> a 1,825 g.L<sup>-1</sup> a 20 °C. Colocou-se 1 mL de álcool isoamílico (densidade 0,81 a 20 °C) e foi adicionado água até a última marcação. O butirômetro foi agitado de modo a promover a mistura completa da solução, seguido de centrifugação por 10 min a 387 g e transferido para banho-maria a 65 °C por 5 min. Após retiradas do banho-maria, foram feitas as leituras da porcentagem de gordura da amostra na escala do butirômetro.

#### 3.3.4.4. Determinação da cor

Para a determinação da cor, as amostras de manteigas, em triplicatas, foram submetidas à avaliação em três pontos

aleatórios sobre as superfícies das amostras. Foi utilizado colorímetro portátil da marca Colortec PCM (Clinton, USA), com fonte de luz D-65 e ângulo de observação de 10° (Georgantelis et al., 2007).

Os valores da cor foram calculados de acordo com a escala CIE L\* a\* b\* (*Centre International de L'Eclairage*).

### 3.4. Análise estatística

Os efeitos dos níveis de inclusão do OG nas dietas sobre o perfil de AG, bem como sobre os índices IA, IT, h/H, AGPI ômega 6/ômega 3, estabilidade oxidativa e parâmetros de composição físico-químicos das manteigas foram avaliados por meio de análises de regressão linear e quadrática ( $P < 0,05$ ) pelo PROC REG do SAS (2002). Utilizou-se o LSMEANS do PROC GLM (SAS, 2002) para geração das médias das variáveis e respectivos erros-padrão.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Perfil de ácidos graxos

A adição crescente de OG nas dietas das vacas propiciou alteração no perfil de AG das manteigas (Tabela 4). Observou-se que as concentrações dos AG de cadeia curta (<C10:0) e média (C10:0 a C18:0) reduziram linearmente ( $P < 0,05$ ) de acordo com a elevação do nível de OG nas dietas. Já os AG de cadeia longa (>C18:0) apresentaram aumento linear ( $P < 0,05$ ) em suas concentrações. O perfil de AG do OG, com elevado teor do ácido linoleico (59,94%) e a biohidrogenação ruminal, provavelmente, foram os responsáveis pelas respostas encontradas (Anexo 2).

A redução linear ( $P < 0,05$ ) observada para a concentração do ácido butírico (C4:0) pode ser considerado efeito negativo para a qualidade da manteiga, pois a este ácido tem sido atribuídas propriedades anti-neoplásicas (Parodi, 1994). Da mesma forma, as concentrações de todos os AGS de cadeia curta também reduziram com a adição crescente de OG o que demonstrou menor síntese *de novo* de AG na glândula mamária, já que estes são sintetizados a partir do acetato e  $\beta$ -hidroxi-butirato, vindos da corrente sanguínea (Grummer e Carroll, 1991).

As concentrações dos AG láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) reduziram linearmente ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente do OG na dieta. A redução foi de 53; 34 e 39%, respectivamente, para as concentrações destes AG para as manteigas dos tratamentos T0 e T4,5. Estes resultados podem favorecer o aumento do valor nutricional das manteigas produzidas das dietas acrescidas de OG e, conseqüentemente, propiciar benefícios para os consumidores, já que estes AG de cadeia média (AGCM) são considerados aterogênicos (Tholstrup et al., 2004). Ribeiro (2009) também relatou redução nos teores dos AG láurico (51%), mirístico (37%) e palmítico (69%) em manteigas oriundas do leite de vacas que receberam 0 e 4,5% de OS na dieta à base capim-elefante.

As concentrações dos ácidos esteárico (C18:0), oleico (C18:1 *cis*-9 + C18:1 *trans*-15) e vaccênico (C18:1 *trans*-11) aumentaram linearmente ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente de OG.

Tabela 4. Perfil de ácidos graxos – AG (g/100 g de AG totais) nas manteigas produzidas com o leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com níveis crescentes de óleo de girassol (OG) na matéria seca (MS) da dieta

Ácido graxo <sup>1</sup> (g/100 g AG totais)	Tratamentos <sup>2</sup>				EPM <sup>3</sup>	Valor de P	Equação de regressão
	T0	T1,5	T3,0	T4,5			
C4:0	3,58	3,77	3,38	2,85	0,1889	0,0028	$\hat{y}=3,8-0,17x$ $r^2=0,45$
C6:0	2,22	2,12	1,68	1,33	0,0819	<0,0001	$\hat{y}=2,3-0,20x$ $r^2=0,87$
C8:0	1,40	1,25	0,96	0,74	0,0420	<0,0001	$\hat{y}=1,42-0,15x$ $r^2=0,94$
C10:0	3,59	2,89	2,24	1,73	0,1048	<0,0001	$\hat{y}=3,5-0,41x$ $r^2=0,96$
C11:0	0,49	0,36	0,22	0,16	0,0136	<0,0001	$\hat{y}=0,47-0,07x$ $r^2=0,87$
C12:0	4,29	3,38	2,47	1,99	0,1099	<0,0001	$\hat{y}=4,2-0,52x$ $r^2=0,89$
C13:0	0,16	0,12	0,07	0,06	0,0064	<0,0001	$\hat{y}=0,15-0,02x$ $r^2=0,81$
C14:0	12,51	11,20	9,25	8,23	0,2114	<0,0001	$\hat{y}=12,5-0,98x$ $r^2=0,92$
C15:0 <i>isso</i>	0,24	0,24	0,18	0,14	0,0052	<0,0001	$\hat{y}=0,25-0,02x$ $r^2=0,76$
C15 <i>anteiso</i>	0,41	0,39	0,36	0,31	0,0113	<0,0001	$\hat{y}=0,41-0,02x$ $r^2=0,54$
C14:1 <i>cis-9</i>	1,16	0,93	0,68	0,63	0,0567	<0,0001	$\hat{y}=1,1-0,12x$ $r^2=0,67$
C15:0	1,79	1,30	1,02	0,87	0,0549	<0,0001	$\hat{y}=1,7-0,20x$ $r^2=0,85$
C16:0	36,42	29,36	24,19	22,13	0,8902	<0,0001	$\hat{y}=35,2-3,2x$ $r^2=0,86$
C16:1 <i>cis-9</i>	1,67	1,26	0,93	0,94	0,0796	<0,0001	$\hat{y}=1,70-0,38x+0,05x^2$ $r^2=0,75$
C17:0	0,54	0,48	0,44	0,40	0,0138	<0,0001	$\hat{y}=0,52-0,03x$ $r^2=0,88$
C17:1 <i>cis-10</i>	0,23	0,18	0,16	0,16	0,0129	<0,0001	$\hat{y}=0,23-0,03x+0,005x^2$ $r^2=0,62$
C18:0	7,15	11,04	12,59	12,50	0,5379	<0,0001	$\hat{y}=7,19+3,16x-0,44x^2$ $r^2=0,83$
C18:1 <i>trans-4</i>	0,01	0,04	0,06	0,07	0,0038	<0,0001	$\hat{y}=0,01+0,01x$ $r^2=0,88$
C18:1 <i>trans-5</i>	0,01	0,02	0,05	0,06	0,0038	<0,0001	$\hat{y}=0,01+0,01x$ $r^2=0,87$
C18:1 <i>trans-6-8</i>	0,10	0,25	0,47	0,60	0,0432	<0,0001	$\hat{y}=0,09+0,11x$ $r^2=0,81$
C18:1 <i>trans-9</i>	0,15	0,26	0,44	0,70	0,0223	<0,0001	$\hat{y}=0,11+0,12x$ $r^2=0,89$
C18:1 <i>trans-10</i>	0,23	0,63	1,27	3,15	0,5735	<0,0001	$\hat{y}=-0,09+0,62x$ $r^2=0,45$
C18:1 <i>trans-11</i>	0,80	2,48	5,45	6,94	0,6327	<0,0001	$\hat{y}=0,71+1,46x$ $r^2=0,83$
C18:1 <i>trans-12</i>	0,14	0,40	0,81	1,04	0,0613	<0,0001	$\hat{y}=0,13+0,20x$ $r^2=0,90$
C18:1 <i>trans-13 + trans-14</i>	0,21	0,45	0,71	0,84	0,0520	<0,0001	$\hat{y}=0,23+0,14x$ $r^2=0,83$
C18:1 <i>cis-9 + trans-15</i>	13,60	17,13	19,52	20,13	0,5261	<0,0001	$\hat{y}=14,29+1,46x$ $r^2=0,85$

*continua...*

Ácido graxo <sup>1</sup> (g/100 g de AG totais)	Tratamentos <sup>2</sup>				EPM <sup>3</sup>	Valor de P	Equação de regressão
	T0	T1,5	T3,0	T4,5			
C18:1 <i>cis</i> -11	0,85	1,00	1,26	1,41	0,0410	<0,0001	$\hat{y}=0,84+0,13x$ $r^2=0,93$
C18:1 <i>cis</i> -12	0,29	0,49	0,67	0,65	0,0286	<0,0001	$\hat{y}=0,29+0,19x-0,02x^2$ $r^2=0,83$
C18:1 <i>cis</i> -13	0,07	0,11	0,14	0,14	0,0069	<0,0001	$\hat{y}=0,06+0,03x-0,05x^2$ $r^2=0,79$
C18:1 <i>trans</i> -16	0,12	0,29	0,42	0,40	0,0165	<0,0001	$\hat{y}=0,11+0,15x-0,44x^2$ $r^2=0,92$
CLA <i>cis</i> -9 <i>trans</i> -12	0,08	0,08	0,07	0,06	0,0043	<0,0001	$\hat{y}=0,08-0,005x$ $r^2=0,74$
C18:2 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12	1,80	1,90	2,04	1,90	0,0695	ns	ns
C20:0	0,11	0,14	0,14	0,13	0,0057	ns	$\hat{y}=0,11+0,02x-0,003x^2$ $r^2=0,45$
Isômeros do C18:3 n-3	0,09	0,09	0,08	0,08	0,0047	ns	ns
C20:1 <i>cis</i> -11	0,04	0,04	0,06	0,06	0,0020	<0,0001	$\hat{y}=0,03+0,007x$ $r^2=0,93$
C18:3 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12 <i>cis</i> -15	0,14	0,13	0,13	0,12	0,0050	0,0004	$\hat{y}=0,14-0,005x$ $r^2=0,58$
CLA <i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11	0,38	1,02	2,06	2,61	0,2921	<0,0001	$\hat{y}=0,36+0,51x$ $r^2=0,79$
CLA <i>trans</i> -9 <i>cis</i> -11	0,02	0,04	0,08	0,12	0,0073	<0,0001	$\hat{y}=0,01+0,02x$ $r^2=0,87$
C21:0	0,04	0,05	0,08	0,13	0,0109	0,0002	$\hat{y}=0,02+0,02x$ $r^2=0,61$
C22:0	0,04	0,06	0,06	0,06	0,0028	0,0075	$\hat{y}=0,03+0,01x-0,002x^2$ $r^2=0,75$
C20:3 n-6	0,07	0,06	0,05	0,05	0,0047	<0,0001	$\hat{y}=0,07-0,005x$ $r^2=0,66$
C20:4 n-6	0,14	0,12	0,10	0,08	0,0092	<0,0001	$\hat{y}=0,14-0,01x$ $r^2=0,74$
C24:0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,0024	ns	ns
ΣAG saturados de cadeia curta	10,79	10,03	8,28	6,65	0,3328	<0,0001	$\hat{y}=11,06-0,94x$ $r^2=0,91$
ΣAG saturados de cadeia média	56,20	46,20	37,66	33,86	1,0494	<0,0001	$\hat{y}=54,81-5,03x$ $r^2=0,90$
ΣAG saturados de cadeia longa	7,36	11,30	12,88	12,82	0,5444	<0,0001	$\hat{y}=7,40-3,19x$ $r^2=0,83$
ΣAGMI totais	20,34	26,62	33,62	38,38	0,8059	<0,0001	$\hat{y}=20,56+4,07x$ $r^2=0,97$
ΣAGPI	2,77	3,49	4,67	5,06	0,3550	<0,0001	$\hat{y}=2,79+0,53x$ $r^2=0,68$

<sup>1</sup>Os AG estão ordenados pelos tempos de retenção observados; <sup>2</sup>Tratamentos T0; T1,5; T3,0; T4,5, respectivamente, dietas contendo 0; 1,5; 3,0 ou 4,5% da matéria seca de OG; <sup>3</sup>EPM = Erro-padrão da média; <sup>4</sup>ns = não-significativo (P>0,05); AGMI=ácidos graxos monoinsaturados; AGPI=ácidos graxos poli-insaturados.

As concentrações dos ácidos esteárico (C18:0), oleico (C18:1 *cis*-9 + C18:1 *trans*-15) e vaccênico (C18:1*trans*-11) aumentaram linearmente ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente de OG. O ácido esteárico é o produto final da biohidrogenação ruminal dos AGPI e AGMI com cadeia de 18 carbonos e, portanto, o aumento de sua concentração nas manteigas refletiu o maior aporte e biohidrogenação destes AGPI e AGMI.

O aumento observado para a concentração do ácido oleico é importante do ponto de vista nutricional da manteiga, pois a estes AG são atribuídos efeitos anti-colesterolêmicos (Tsimikas et al., 1999). Este resultado, provavelmente, foi devido ao teor de ácido oleico do OG (aproximadamente 22% AG totais), como também a sua síntese na glândula mamária (Jenkins et al., 2008).

Da mesma forma, o aumento do teor do ácido vaccênico contribui para o melhor valor nutricional da manteiga, pois trata-se do principal precursor do CLA *cis*-9, *trans*-11 na glândula mamária dos ruminantes. O aumento do ácido vaccênico advém da biohidrogenação ruminal dos AGPI, principalmente do ácido linoleico, que é o AG com maior concentração no OG (Anexo 2).

Foi observado aumento linear ( $P < 0,05$ ) da concentração do CLA *cis*-9, *trans*-11 nas manteigas propiciado pela adição crescente de OG na dieta. Este aumento pode ser explicado pela elevação da concentração do ácido vaccênico (C18:1 *trans*-11). O tratamento T4,5 propiciou aumento de 867 e 687%, respectivamente, para as concentrações do ácidos vaccênicos e CLA *cis*-9,

*trans*-11 em relação às concentrações propiciadas pelo T0. No trabalho realizado por Lopes et al. (2009), os aumentos nos teores do CLA *cis*-9, *trans*-11 e vaccênico foram de 359 e 467%, respectivamente, nas manteigas propiciado pela adição crescente de OS na dieta. Estas respostas são consideradas benéficas devido às propriedades nutracêuticas atribuídas ao CLA *cis*-9, *trans*-11 como também ao potencial de produção deste em humanos a partir do ácido vaccênico (Turpeinen et al., 2008). Outro aspecto relevante é a possibilidade de melhor valorização nutricional da manteiga que, por seu elevado teor de AG, é associada apenas aos efeitos negativos que alguns destes podem causar à saúde humana.

As concentrações dos ácidos vaccênico (C18:1*trans*-11), CLA *cis*-9, *trans*-11 e oleico (C18:1*cis*-9) aumentaram linearmente ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente de OG. Efeito semelhante foi relatado por Lopes et al. (2009) em manteigas referentes as dietas com 0; 1,5; 3,0; e 4,5% da MS de OS, respectivamente, de 2,0; 4,24; 6,44 e 9,35 para o ácido vaccênico; 1,28; 2,47; 3,74 e 4,59 para o CLA *cis*-9, *trans*-11) e 20,4; 21,8; 23,1; 22,6 g/100 g para os AG totais (oleico).

Com relação ao ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12), não houve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) das dietas experimentais, sendo a concentração média de 1,91 g/100 g de AG. Provavelmente, a biohidrogenação ruminal deste ácido aumentou de acordo com adição crescente de OG às dietas, de modo que a concentração final do ácido linoleico manteve-se semelhante. Corroborando com isto, houve aumento

linear das concentrações do CLA *cis*-9, *trans*-11, vaccênico, oleico e esteárico, originados, provavelmente da biohidrogenação do ácido linoleico, já que este correspondeu a aproximadamente, 60% da concentração dos AG totais do OG.

Com relação ao ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12), não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ) das dietas experimentais, sendo a concentração média de 1,91 g/100 g de AG. Provavelmente, a biohidrogenação ruminal deste ácido aumentou de acordo com adição crescente de OG às dietas, de modo que a concentração final do ácido linoleico manteve-se semelhante. Corroborando com isto, houve aumento linear das concentrações do CLA *cis*-9, *trans*-11, vaccênico, oleico e esteárico, originados, provavelmente da biohidrogenação do ácido linoleico, já que este correspondeu a aproximadamente, 60% da concentração dos AG totais do OG.

Já a concentração do ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15) reduziu linearmente ( $p< 0,05$ ) nas manteigas com a adição crescente de OG na dieta. Diferentemente do ácido linoleico, a concentração do ácido  $\alpha$ -linolênico foi pequena no OG (aproximadamente 1,40 %) e nos suplementos (3,66 a 2,20% do T0 para o T4,5, respectivamente). Mesmo com o efeito observado, a redução de sua concentração foi pequena do T0 para o T4,5 (0,14 para 0,12 g/100 g dos AG totais). Em virtude destes resultados, provavelmente, a contribuição do ácido  $\alpha$ -linolênico no aumento da concentração dos ácidos oleico, vaccênico e CLA *cis*-9, *trans*-11 foi em menor magnitude que à do ácido linoleico.

A concentração dos AGMI C18:1 *trans*-9 (elaídico) e *trans*-10 apresentaram aumento linear ( $P<0,05$ ) com a adição crescente de OG à dieta. Estes efeitos podem ser considerados negativos, haja vista, as propriedades cancerígenas atribuídas ao ácido elaídico (Bassett et al., 2010) e ao fato do C18:1 *trans*-10 ser precursor do C18:2 *trans*-10, *cis*-12, principal causador da depressão da gordura do leite em vacas (Baumam, 2002)

#### 4.2. Índices da qualidade nutricional dos lipídeos das manteigas

Os índices de qualidade nutricional dos lipídeos das manteigas foram determinados, dentre eles, os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) e as relações dos AG hipo/hipercolesterolêmicos (h/H) e AGPI ômega-6/ômega-3 das manteigas (Tabela 5).

##### 4.2.1. Índice de aterogenicidade e trombogenicidade

Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) das manteigas apresentaram redução linear ( $P<0,05$ ) com a adição crescente de OG nas dietas (Tabela 5). A redução dos valores destes índices é importante para toda cadeia de lácteos, pois ocorreu tanto pela redução das concentrações dos ácidos mirístico e palmítico (aterogênicos e trombogênicos) quanto pelo aumento dos AGMI e AGPI, principalmente pelo CLA *cis*-9, *trans*-11.

Segundo Tonial et al. (2010), os IA e IT indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, ou seja, quanto menores os valores de IA e IT, maior é

quantidade de AG anti-aterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas. Desta forma, a redução destes índices demonstra o

potencial que existe para a produção de manteigas com valor nutritivo mais adequado para a saúde humana, pois, comumente, este produto é referido apenas por seu teor de gordura total.

Tabela 5. Índice de aterogenicidade e trombogenicidade, relação de ácidos graxos hipocolesterolêmicos: hipercolesterolêmico (h/H) e de ácidos graxos (g/100 g de AG totais) poli-insaturados ômega-6/ômega-3 em manteigas oriundas do leite de vacas recebendo 0; 1,5; 3,0 ou 4,5% de óleo de girassol (OG) na dieta

Índices	Tratamento <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	Valor de P	Equação de regressão
	T0	T1,5	T3,0	T4,5			
Aterogenicidade	4,02	2,70	1,80	1,41	0,1441	<0,0001	$\hat{y}=3,98-0,58x$ $r^2=0,87$
Trombogenicidade	4,68	3,43	2,50	2,05	0,1732	<0,0001	$\hat{y}=4,49-0,598x$ $r^2=0,91$
h/H	0,30	0,45	0,62	0,70	0,0264	<0,0001	$\hat{y}=0,31-0,09x$ $r^2=0,87$
AGPI ômega 6/ômega 3	9,38	10,00	10,63	10,70	0,1996	<0,0001	$\hat{y}=9,49+0,3x$ $r^2=0,74$

<sup>1</sup>Tratamentos T0; T1,5; T3,0; T4,5, respectivamente, dietas contendo 0; 1,5; 3,0 ou 4,5% da matéria seca de OG; <sup>2</sup>EPM = Erro-padrão da média; <sup>3</sup>ns = não-significativo (P>0,05).

Resultados semelhantes ao presente estudo foram relatados por Lopes et al. (2008) (IA: 3,01; 2,48; 2,00 e 1,88; IT: 2,83; 2,47; 2,27 e 2,15) e Ribeiro et al. (2011a) (IA: 2,56; 1,88; 1,56 e 1,38; IT: 1,68; 1,42; 1,27 e 1,22), respectivamente, em manteigas e leite para os tratamentos com 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de OS e OG. No presente estudo os IA e IT foram reduzidos em 65 e 56%, respectivamente, do T0 para T4,5, sendo esta redução maior que a relatada pelos autores acima, nos quais os IA e IT reduziram, respectivamente, em 37 e 24% (Lopes et al., 2008) e 46 e 27% (Ribeiro et al., 2011a) do T0 para o T4,5.

#### 4.2.2. Razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos

A relação h/H das manteigas aumentou linearmente (P<0,05) com a adição crescente de OG. De acordo com Sousa Bentes et al. (2009) quanto maior a relação entre h/H mais adequado nutricionalmente é o óleo ou a gordura dos alimentos. No presente estudo houve aumento de 233% nesta relação entre as manteigas oriundas do leite das vacas que receberam T0 para que as que receberam T4,5. Portanto, estes resultados sugerem que a adição crescente de OG tornou o perfil de AG

das manteigas mais apropriado para o consumo humano, com maior potencial para prevenir o aumento do colesterol sérico, principalmente do LDL e, conseqüentemente, reduzir o risco de doenças cardiovasculares (Ascherio e Willett, 1995).

#### 4.2.3. Relação dos ácidos graxos poli-insaturados ômega 6/ômega 3

A relação AGPI ômega 6/ômega 3 apresentou aumento linear ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente de OG nas dietas. Houve incremento de 12,33% no índice quando comparadas as manteigas dos tratamentos TO e T4,5. De acordo com FAO (1994), valores abaixo de 10,0 sugerem quantidades desejáveis à dieta para a prevenção de riscos cardiovasculares. Observou-se que os índices propiciados pelos T1,5; T3,0 e T4,5 foram superiores a 10 e a causa deveu-se tanto à redução linear do ácido  $\alpha$ -linolênico como a ausência de efeito do ácido linoleico, que são respectivamente, os principais AG ômega 6/ômega 3.

Porém, deve ser considerado que a manteiga apenas compõe parte da dieta diária das pessoas e pode contribuir como importante fonte para atender os requisitos de AG essenciais.

#### 4.3. Estabilidade oxidativa

Apesar da melhoria no perfil dos ácidos graxos e nos índices de qualidade

nutricional da manteiga, a inclusão crescente de OG na dieta propiciou redução linear ( $P < 0,05$ ) da estabilidade oxidativa (EO) das manteigas (Figuras 7 e 8). Esta redução ocorreu devido ao aumento da concentração dos AG monoinsaturados e AGPI totais (Tabela 4), já que a elevação da concentração destes torna os alimentos mais susceptíveis à oxidação (Choe e Min, 2006). A redução de 4,0 h (T0) para 1,68 h (T4,5) na EO, indica o menor tempo de validade (vida de prateleira) da manteiga, o que pode ser indesejável para a indústria. Porém, esta análise não pode ser feita isoladamente, pois devem ser considerados os benefícios do aumento das concentrações dos ácidos vaccênico e CLA *cis*-9, *trans*-11, concomitante a redução das concentrações dos ácidos láurico, mirístico e palmítico (Tabela 5).

Estes resultados corroboram com relatados por Gama et al. (2008) e Ribeiro et al. (2011b), que utilizaram condições experimentais semelhantes ao do presente estudo. A EO de 2,69; 2,28; 1,74; 1,34 h (Gama et al., 2008); e de 6,89; 6,26; 5,70; 5,51 h (Ribeiro et al., 2011b), foram relatados pelos autores em dietas à base de capim-elefante suplementadas com 0; 1,5; 3,0 e 4,5% da MS de OS e de OG, respectivamente. Os autores também atribuíram estas respostas ao aumento dos teores de AGMI e AGPI com a adição crescente de óleo vegetal na dieta.

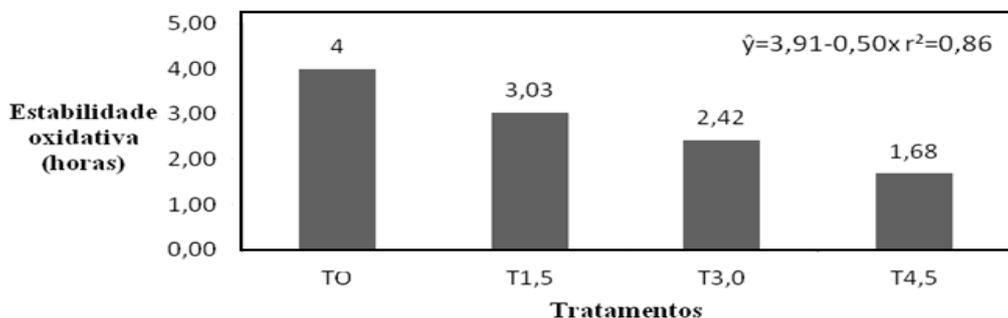


Figura 7. Estabilidade oxidativa (horas) em manteigas oriundas do leite de vacas recebendo 0; 1,5; 3,0 ou 4,5% de óleo de girassol (OG) na dieta

A suplementação com vitamina E e selênio à dietas ricas em AGPI pode contribuir para maior estabilidade oxidativa das manteigas. A inclusão destes dois agentes antioxidantes em dietas de vacas recebendo óleo de girassol aumentou a estabilidade oxidativa do leite comparado ao de

vacas não suplementadas com antioxidantes (Saram Netto et al., 2011). Estas respostas ajudam a viabilizar a produção leite e derivados com elevados teores de AGPI benéficos à saúde humana, sem que haja perdas nutricionais e sensoriais durante o armazenamento.

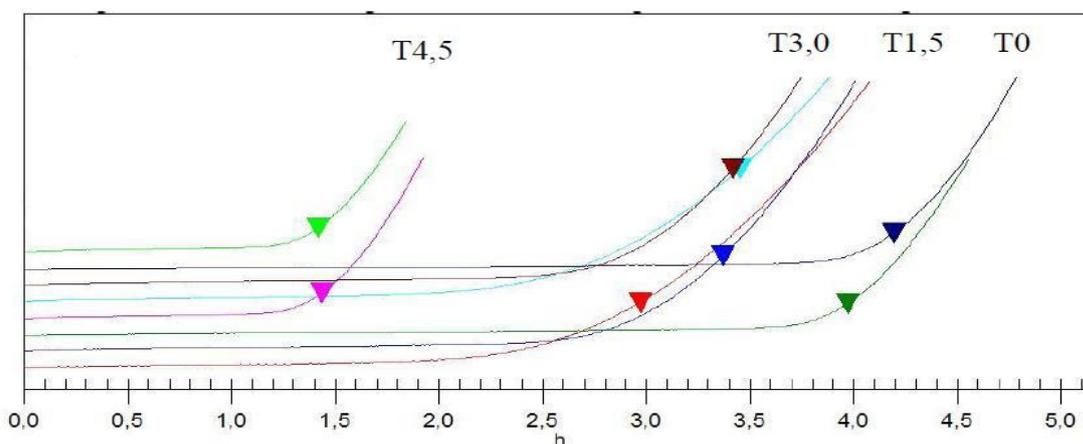


Figura 8. Curvas da determinação da estabilidade oxidativa por meio de Rancimat®

#### 4. Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas das manteigas estão apresentados na Tabela 6.

##### 4.4.1. Acidez titulável

A adição de OG na dieta das vacas provocou aumento linear ( $P < 0,05$ ) da acidez das manteigas (Tabela 6). Os valores observados para acidez variaram

de 0,52 a 0,66 SN% do T0 para T4,5. Tais valores estão dentro dos

preconizados para manteigas, cujo valor máximo é de 3,0 SN% (Brasil, 1996).

Tabela 6. Requisitos físico-químicos de manteigas produzidas do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com níveis crescentes de óleo de girassol (OG) na matéria seca da dieta

Requisitos	Tratamentos <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	Valor de P	Equação linear
	T0	T1,5	T3,0	T4,5			
Acidez (SN%)	0,5	0,5	0,6	0,6	0,0417	0,0243	$\hat{y}=0,50+0,03x$ $r^2=0,26$
Umidade (g 100g)	18,9	18,4	19,5	18,3	0,9630	ns	ns
Gordura (g.100g <sup>-1</sup> )	85,9	83,7	83,7	83,5	1,2244	ns	ns
L * (Luminosidade)	81,7	84,7	85,8	87,1	3,3	ns	ns
a * (Vermelho)	-6,2	-6,7	-8,9	-7,4	0,91	ns	ns
b * (Amarelo)	14,3	12,3	13,4	10,6	1,1	0,0409	$\hat{y}=14,22-0,66x$ $r^2=0,21$

<sup>1</sup>Tratamentos T0; T1,5; T3,0; T4,5, respectivamente, dietas contendo 0; 1,5; 3,0 ou 4,5% da matéria seca de OG; <sup>2</sup>EPM = Erro-padrão da média; <sup>3</sup>ns = não-significativo (P>0,05).

#### 4.4.2. Umidade

Os teores de umidade das manteigas analisadas variaram de 18,3 a 19,5 g/100g. Estes valores estão acima do permitido, de acordo com Brasil, 1996 que estabelecem valor máximo de 16% de umidade para manteiga. Apesar dos teores de umidade estarem acima do permitido pela legislação, houve padronização durante a produção das manteigas, pois os teores de umidade foram semelhantes entre si (P>0,05). Este é um aspecto positivo demonstrando que, apesar do processo de produção da manteiga ter sido semi-artesanal, o produto obtido foi similar em termos da umidade. A umidade não foi influenciada pela adição de OG na dieta (P>0,05) apresentando média de 18,8 g/100g

#### 4.4.3. Gordura

Os teores de gordura variaram de 85,9 a 83,5 g/100g. Desta forma, todas as manteigas analisadas apresentaram valores acima do valor mínimo de 82 g/100g de gordura (Brasil, 1996). A adição de OG na dieta não influenciou o teor de gordura (P>0,05) das manteigas que apresentaram média de 84,2 g/100g

#### 4.4.4. Cor

Os valores obtidos para os parâmetros, L\* (luminosidade da amostra) e a\* (intensidade de verde) indicam a ausência de efeito pela adição de OG na dieta (P>0,05). Porém, o parâmetro b\* (intensidade de amarelo) reduziu (P<0,05) em função da adição de OG na dieta apresentando coloração mais clara,

com perda da cor amarela característica. Deve-se ressaltar que a cor da manteiga está associada ao teor de gordura e, portanto, passível de variações sazonais. A manteiga tem como característica cor levemente amarelada (Brasil, 1996).

## 5. CONCLUSÃO

A suplementação de dietas à base de cana-de-açúcar com a adição de óleo de girassol alterou de forma positiva a composição dos ácidos graxos da manteiga. Tais benefícios foram decorrentes da redução nas concentrações dos ácidos graxos

saturados de cadeia média, que são considerados aterogênicos e elevação dos teores de ácidos graxos monoinsaturados, poli-insaturados de cadeia longa e, principalmente, do CLA *cis*-9, *trans*-11, vaccênico e oleico. Tais alterações melhoraram o perfil nutricional das manteigas para o consumo humano, pela redução dos índices de aterogenicidade e trombogenicidade e dos ácidos graxos hipercolesterolêmicos. Entretanto, a inclusão de níveis crescentes de óleos de girassol na dieta reduziu a estabilidade oxidativa das manteigas, diminuindo a sua vida de prateleira.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. *Boletim CEPPA*, v.19, n.2, p.353-380, 2001.
- AOCS (American Oil Chemists' Society). Method Cd 12b-92. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society, 5th edition. Champaign, IL: AOCS, 1992.
- APPOLINÁRIO, P.P.; DEROGIS, P.B.M.C.; YAMAGUTI, T.H. et al. Metabolismo, oxidação e implicações biológicas do ácido docosahexaenoico em doenças neurodegenerativas. *Química Nova*, v.34, n.8, p.1-8, 2011.
- ARAÚJO, J.M.A. *Química de Alimentos: teoria e prática*. 4. ed. Viçosa: UFV, 2008. 596 p.
- ASCHERIO, A; WILLETTE, W.C. New directions in dietary studies of coronary heart Disease. *Journal of Nutrition*, v.125, p.647-655, 1995.
- ASSUNÇÃO, J.M.P. *Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos açores*. 2007, 113f. Dissertação de mestrado em controlo da qualidade e toxicologia dos alimentos, Universidade de Lisboa, Lisboa.
- AYDIN, R. Conjugated linoleic acid: chemical structure, sources and biological properties. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, v.29, n.2, p.189-195, 2005.
- BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; SCHROEDER, G.F. et al. Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Animal Feed Science and Technology*, v.131, n.10, p. 226-240, 2006.
- BASSETT, M. C.C; EDEL, A. L; PATENAUDE, A. F. et al. Dietary vaccenic acid has antiatherogenic effects in LDL LDLr<sup>-/-</sup> mice. *Journal of Nutrition and Disease*, v.140, n.1, p.18-24, 2010.
- BAUCELLS, M.D.; CRESPO, N.; BARROETA, A.C. et al. Incorporation of different polyunsaturated fatty acids into eggs. *Poultry Science*, v.79, p.5-59, 2000.
- BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid (CLA) and milk fat: A good news story. Arizona: *The University of Arizona*, 2002. (Animal Science). Disponível em: <http://animal.cals.arizona.edu/azdp/papers/2002/bauman.pdf> >. Acesso em: 24 abr. 2010.
- BAUMAN, D.E.; BARBANO, D.M.; DWYER, D.A.; GRIINARI, J.M. Production of butter with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.2422-2425, 2000.
- BENTES, A.S; SOUZA, H.A.L.; MENDONÇA, X.M.F.D. et al. Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. *Revista Brasileira de Tecnologia e Agroindústria*, v.3, n.2, p.97-108, 2009.
- BERNARDINO, V.M.P. Relação entre ácidos graxos ômega-3 e nutrição de frangos de corte. *Revista Eletronica Nutrime*, v.6, n. 3, p.967-972, 2009.
- BESSA, R.J.B.; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, J.M.R. et al. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, v.63, n.3, p.201-211, 2000.
- BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J.A.; FAGERTUN, H. et al. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *Journal of Nutrition*, v.130, n.12, p.2943-2948, 2000.

- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Divisão de Normas Técnicas. Resolução Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Manteiga. Resolução Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Manteiga. Brasília, 1996, p. 5.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. Diário Oficial, Brasília, 14 de dezembro de 2006, seção 1, p 8.
- CARDOZO, L. *Perfil de ácidos graxos, estabilidade oxidativa e aspectos sensoriais do leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta e selenito de sódio injetável*. Santa Maria. Faculdade de Medicina Veterinária, UFSM. 2011. 50f. (Dissertação, Mestrado Medicina Veterinária).
- CHIARA, V.L.; SICHIERI, R.; CARVALHO, T.S.F. Teores de ácidos graxos trans de alguns alimentos consumidos no ácidos graxos trans de alguns alimentos consumidos no Rio de Janeiro. *Revista de Nutrição*, v.16, n.2, p.227-233, 2003.
- CHOE, E.; MIN, D.B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Reviews in Food Science and Food Safety*, v.5, n.4, p.169-186, 2006.
- CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *Journal of Lipid Research*, v.23, n.7, p.1072-1075, 1982.
- COLLOMB, M.; SCHMID, A.; SIEBER, R. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: variation and physiological effects. *International Dairy Journal*, v.16, n.11, p.1347-1361, 2006.
- COLLOMB, M.; SIEBER, R.; BÜTIKOFER, U. CLA isomers in milk fat from cows fed diets with high levels of unsaturated fatty acids. *Lipids*, v.39, n.4, p.355-364, 2004a.
- COLLOMB, M.; SOLLBERGER, H.; BÜTIKOFER, U. et al. Impact of a basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflowerseed on the fatty acid composition of milk fat. *International Dairy Journal*, v.14, p.549-559, 2004b.
- COOK, M.E.; PARIZA, M. The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. *International Dairy Journal*, v.8, p.459-462, 1998.
- COPPIN, E.A.; PIKE, O.A. Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-exposed soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.78, n.1, p.13-18, 2001.
- CRUZ-HERNANDEZ, C.; KRAMER, J.K.G.; KENNELLY, J.J. et al. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. *Journal of Dairy Science*, v.90, n.8, p.3786-3801, 2007.
- DESTAILLATS, F.; GOLAY, P.; JOFFRE, F. et al. Comparison of available analytical methods to measure *trans*-octadecenoic acid isomeric profile and content by gas-liquid chromatography in milk fat. *Journal of Chromatography*, v.1145, n.1-2 p.222-228, 2007.
- DEWHURST, R.J.; SHINGFIELD, K.J.; LEE, M.R.F. et al. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology*, v.131, n.3, p.168-206, 2006.

- DHIMAN, T.R.; NAM, S.; URE, A.L. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.45, n.6, p.463-482, 2005.
- DHIMAN, T.R.; KOREVAAR, A.C.; SATTER, L.D. Particle size of roasted soybeans and the effect on milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.80, p.1722-1727, 1997.
- DHSS. DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. *Report in health and social subjects*, n. 46: nutritional aspects of cardiovascular disease. London: HMSO, p.178, 1994
- ELDIN, A.K.; YANISHLIEVA, N.V. N-3 fatty acids for human nutrition: stability considerations. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v.104, p.825-836, 2002.
- ELGERSMA, A.; TAMMINGA, S.; ELLEN, G. Modifying milk composition through forage. *Animal Feed Science and Technology*, v.131, n.3, p.207-225, 2006.
- FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (1994). *Fats and Oils in Human Nutrition* Divisão de publicações FAO, Roma, Itália. ISBN 92-5-10.p, 3621-3627, 1994.
- FERRARI, C.K.B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Revista de Nutrição*, v.11, n.1, p.3-14, 1998.
- FRANKEL, E.N.; HUANG, S.W.; KANNER, J. et al. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs emulsions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.42, n.5, p.1054-1059, 1994.
- FARMER, H.B.; BLOOMFIELD, F.; UNDRULINGAM, A. et al. The course and mechanism of autoxidation reactions in olefinic and polyolefinic substances, including rubber. *British Rubber Producers' Research Association*, p.348-366, 1942.
- FUNK, L.G.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, J.M. Ácido linoléico conjugado e sua relação com a doença cardiovascular e os fatores de risco associados. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v.56, n.2, p.1-15, 2006.
- GAMA, M.A.S. Produção de leite com alto teor de ácido linoléico conjugado (CLA). In: 11º CONGRESSO PAN-AMERICANO DO LEITE, 2010, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte 2010.
- GAMA, M.A.S.; LOPES, F.C.F.; RIGUEIRA, J.C.S. et al. Perfil de ácidos grasos y estabilidad oxidativa de mantecas elaboradas con leche de vacas que reciben dietas con aceite de soja. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 54: 56-57, 2008.
- GAULLIER, J.M.; HALSE, J.; HØYE, K. et al. Conjugated linoleic acid supplementation for one year reduces body fat mass in healthy overweight humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.79, n.6, p.1118-1125, 2004.
- GEORGANTELIS, D; BLEKAS, G; KATIKOU, P. et al. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, v.75, n.2, p.256-264, 2007.
- GONZALES, S.; DUNCAN, S.E.; O'KEEFE, S.F. et al. Oxidation and textural characteristics of butter and ice cream with modified fatty acid profiles. *Journal Dairy Science*, v.86, n.1, p.70-77, 2003.

- GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H. et al. 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.
- GRIINARI, J.M.; DWYER, D.A.; McGUIRE, M.A. et al. *Trans*-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.81, n.5, p.1251-1261, 1998.
- GRUMMER, R.R.; CARROLL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v.68, n.9, p.3838-3852, 1991.
- HARA, A.; RADIN, N.S. Lipid extraction of tissues with low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*, v.90, n.1, p.420-426, 1978.
- HU, F.B.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E. et al. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.70, n.6, p.1001-1008, 1999.
- HUGHES, C.L.; DHIMAN, T.R. Dietary compounds in relation to dietary diversity and human health. *Journal of Medicinal Food*, v.5, n.2, p.51-68, 2002.
- IP, C.; DONG, Y.; IP, M.M. et al. Conjugated linoleic acid isomers and mammary cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, v.43, n.1, p.52-58, 2002.
- JAKOBSEN, K. Dietary modifications of animal fats: status and future perspectives. *Fett Lipid*, v.101, n.12, p.475-483, 1999.
- JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J. et al. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal Animal Science*, v.86, n.2, p.397-412, 2008.
- JORGE, N.; GONCALVES, L.A.G. Comportamento do óleo de girassol com alto teor de ácido oléico em termoxidação e fritura. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.18, n.3, p.335-342, 1998.
- KALSCHEUR, K.F.; TETER, B.B.; PIPEROVA, L.S. et al. Effect of fat source on duodenal flow of trans-C<sub>18:1</sub> fatty acids and milk fat production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.80, n.9, p.2115-2126, 1997.
- KELLY, M.L.; BERRY, J.R.; DWYER, D.A. et al. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *Journal of Nutrition*, v.128, n.1, p.881-885, 1998.
- KEPLER, C.R.; TUCKER, W.P.; TOVE, S.B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate delta-12-cis, delta-11-trans isomerase from *butyrivibrio fibrisolvens*. *Journal of Biological Chemistry*, v.245, n.14, p.3612-3620, 1970.
- KEPLER, C.R.; TOVE, S.B. Biohidrogenation of insaturated fatty acids. *Journal of Biological Chemistry*, v. 242, n.24, p.5686-5694, 1967.
- KHANAL, R.C.; DHIMAN, T.R.; URE, A.L.C.P. et al. Consumer acceptability of conjugated linoleic acid-enriched milk and cheddar cheese from cows grazing on pasture. *Journal Dairy Science*, v.88, n.5, p.1837-1847, 2005.
- KIRK, R.J. Biological availability of nutrients in processed foods. *Journal of Chemical Education*, v.61, n.4, p.364-367, 1984.

- KRAMER, J.K.G.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.R. et al. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and 15 total trans fatty acids. *Lipids*, v.32, n.5, p.1219-1228, 1997.
- KRAMER, J.K.G.; PARODI, P.W.; JENSEN, R.G. et al. Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids*, v.33, n.8, p.835, 1998.
- LAWLESS, F.; STANTON, C.; L'ESCOPE, P. et al. Influence of breed on bovine milk *cis*-9, *trans*-11-conjugated linoleic acid content. *Livestock Production Science*, v.62, n.1, p.43-49, 1999.
- LAWLESS, F.; MURPHY, J.J.; HARRINGTON, D.C. et al. Elevation of conjugated *cis*-9, *trans*-11- octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. *Journal Dairy Science*, v.81, n.12, p.3259-3267, 1998.
- LIMA JÚNIOR, D.M.; MONTEIRO, P.B.S.; RANGEL, A.H.N. et al. Alimentos funcionais de origem animal. *Revista Verde*, v.6, n.1, p.10-20, 2011.
- LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting *de novo* fatty acids synthesis. *The Journal of Nutrition*, v.128, p.2411-2419, 1998.
- LOPES, F.C.F.; BARROS, P.A.V.; BRUSCHI, J.H. et al. Perfil de ácidos graxos no leite de vacas Holandês em pastagens tropicais suplementadas com dois níveis de concentrado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, p.518-521, 2011.
- LOPES, F.C.F.; RIBEIRO, C.G.S.; RIBEIRO, M.T. et al. Milk fatty acid profile from dairy cows fed increasing levels of soybean oil in diets based on tropical forage. In: XITH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY. 11. 2009. Clermont-Ferrant. *Proceedings...* Wageningen: Wageningen Academic Publishers, p.588-589, 2009.
- LOPES, F.C.F.; GAMA, M.A.S.; ANTONIASSI, R. et al. Índices de aterogenicidade e trombogenicidade de manteigas oriundas do leite de vacas consumindo dietas com óleo de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 21., 2008, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: SBCTA/UFMG, 2008.
- MALLIA, S.; PICCINALI, P.; REHBERGER, B. et al. Determination of storage stability of butter enriched with unsaturated fatty acids/conjugated linoleic acids (UFA/CLA) using instrumental and sensory methods. *International Dairy Journal*, v.18, n.10-11, p.983-993, 2008.
- MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutrição*, v.19, p.761-770, 2006.
- MARTIN, J.; VALEILE, K. Conjugated linoleic acids: all the same or to everyone its own function? *Reproduction, Nutrition, Development*, v.42, n.6, p.525-536, 2002.
- McCLEMENTS, D.J.; DECKER, E.A. In: FENNEMA, O.R. *Química de alimentos de Fennema*. 4. ed: Porto Alegre: Artmed, 900p, 2010.
- MENDONÇA, A.C. *Atividade antioxidante de poliaminas e comparação com produtos naturais e sintéticos*. 2009. 86 f. (Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- MENSINK, R.P.; ZOCK, P.L.; KESTER, A.D. et al. Effects of dietary fatty acids and

- carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.77, n.12, p.1146–1155, 2003.
- METROHM. Application Bulletin AB-232. Determination of the antioxidant activity by the Racimat method 2008. Disponível em [www.products.metrohm.com/applications](http://www.products.metrohm.com/applications). Acesso em 01 Jun. 2010.
- MILLER, C.C.; PARK, Y.; PARIZA, M.W. et al. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.198, n.3, p.1107-1112, 1994.
- MOSLEY, E.E.; POWELL, G.L.; MELISSA B.R. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. *Journal of Lipid Research*, v.43,n.2, p.290-296, 2002.
- NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. *Química de los alimentos*. 2ed. Zaragoza: Acribia, p,1258, 2000.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. In: *Lehninger:Princípios da bioquímica*. 3ed. São Paulo: Sarvier, p.975, 2002.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle.7ed. Washington, DC: *National Academy Press*, p.381, 2001.
- OLIVEIRA, M.A.; REIS, R.B.; LADEIRA. M.M. Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas com diferentes proporções de forragem e teores de lipídeos *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.3, p.759-766, 2008.
- OLIVEIRA, M.F.; VIEIRA, O.V. *Extração de óleos de girassol utilizando miniprensa-EMBRAPA*, 2004. p.30 (Documentos n. 237).
- PARIZA, M.W.; PARK, Y.; COOK, M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, v.40, n.4, p.283-298, 2001.
- PARK, Y.; ALBRIGHT, K. L; LIU, W. et al. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, v.31, n.8, p.853-858, 1997.
- PARODI, P.W. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *Journal Dairy Science*, v.60, n.10, p.1550-1553, 1977.
- PARODI, W.P. Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Australian Journal of Dairy Technology*, v.49, n.2, p.93-97, 1994.
- PIEIDADE, K.R. *Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (Sardinella brasikiensis) processados*. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP. 2007.160f. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- PELEGRINI, L.F.V. *Perfil de ácidos graxos, embutido fermentado e características da carcaça de ovelhas de descarte*. Santa Maria. Centro de Ciências Rurais. UFSM. 2007. 71f. (Tese, doutorado em Zootecnia).
- PINHO, L.M. *Estabilidade oxidativa de carne de frango alimentados com diferentes fontes lipídicas, armazenadas sob congelamento*. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP. 2005.60f. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- PRADO, A.C.P. *Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [Carya illinoensis (Wangenh) C. Koch]*. Florianópolis: Centro de Ciências Agrárias,

- Universidade Federal de Santa Catarina 2008. 131 f. (Dissertação, Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- RAFF, M.; THOLSTRUP, T.; TOUBRO, S. et al. Conjugated linoleic acids reduce body fat in healthy postmenopausal women. *Journal of Nutrition*, v.139, n.1, p.1-6, 2009.
- RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v.29, n.4, p.755-760, 2006.
- REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Deterioração de lipídios- ração In: OETTERER. M. *Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos*. Barueri, SP: Manole, 2006.612p.
- REIS, R.B.; GLÓRIA, J.R.; VIEIRA, L.R. et al. Manipulação da composição do leite pela nutrição da vaca. In: Simpósio do Agronegócio do Leite: produção, gestão e qualidade, 1., 2004, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 2004.
- RIBEIRO, C.G.S; GAMA, M.A.S.; , M.T et al . *Índices de aterogenicidade e trombogenicidade da gordura do leite de vacas consumindo dietas à base de capim-elefante contendo níveis crescentes de óleo de girassol* In: 48<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 48, 2011, Belém. *Anais...* Belém: SBZ, 2011a.
- RIBEIRO, C.G.S; LOPES, F.C.F.; RIBEIRO, M.T. et al .*Estabilidade oxidativa da gordura do leite de vacas alimentadas com dietas à base de capim elefante contendo níveis crescentes de óleo de girassol*. In: In: 48<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 48, 2011, Belém. *Anais...* Belém: SBZ, 2011b.
- RIBEIRO, C.G.S. *Níveis crescentes de óleo de soja em dieta baseada em capim-elefante (Pennisetum purpureum Shumack) picado sobre parâmetros da fermentação e cinética ruminal, composição e perfil de ácidos graxos do leite de vacas mestiças*. Belo Horizonte. Escola de Veterinária, UFMG. 2009. 118f. (Dissertação de mestrado em zootecnia)
- RISÉRIUS, U.; BERGLUND, L.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomized controlled trial. *International Journal of Obesity*, v.25, n.8, p.1129-1135, 2001.
- ROCHA, L.A.C. *Qualidade do leite de búfala e desenvolvimento de bebida láctea com diferentes níveis de iogurte e soro de queijo*. Itapetinga. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB. 2008. 82f. (Dissertação, Mestrado em Engenharia de Alimentos).
- RODRIGUES, J.N. *Desenvolvimento de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura do leite, óleo de girassol e ésteres de fitosteróis para aplicação em spreads*. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP. 2006. 164f. (Tese, doutorado tecnologia Bioquímico-Farmacêutica).
- SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C; LANA, R.P. Efeito da suplementação de lipídios na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n. 6, p.1936-1938, 2001.
- SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R.J.B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: Fatty and composition of meat. *Livestock Production Science*, v.77, n.2, p.187-194, 2002.

- SARAN NETTO, A.; ZANETTI, M.A.; DELLAQUA, G.F. et al. Estabilidade oxidativa do leite de vacas em função da suplementação na dieta com óleo de girassol selênio e vitamina E. In: 48<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 48, 2011, Belém. *Anais...* Belém: SBZ, 2011.
- SAS Institute Inc. SAS<sup>®</sup> User's Guide: Statistics, 5ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.
- SHIOTA, M.; TATSUMI, K. Effect of sucrose ester of fatty acid on the antioxidant activity of milk products on fish oil oxidation. *Journal of Food Science*, v.67, n.2, p.547-552, 2002.
- SHER, J.; PRONCZUK, A.; HAJRI, T. et al. Dietary conjugated linoleic acid lowers plasma cholesterol during cholesterol supplementation, but accentuates the atherogenic lipid profile during the acute phase response in hamsters. *Journal of Nutrition*, v.133, n.2, p.456-460, 2003.
- SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, v.22, n.1, p.94-103, 1999.
- SILVA HERNÁNDEZ, E.R; JÁCOME, M.M.S; LEE, R.G.H. Alto contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y productos derivados al incorporar semillas de girasol a la dieta vacuna. Implicaciones sobre el riesgo trombo/aterogênico. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v.57, n. 2, p.173-178, 2007.
- SILVA, L.P. *Avaliação do prazo de vida comercial de lingüiça de franco preparada com diferentes concentrações de polifosfato*. Niterói. Universidade Federal Fluminense, UFF. 2004.72f. (Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária)
- SIMOPOULOS, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine Pharmacotherapy*, v.56, n.8, p.365-379, 2002.
- SOUSA BENTES, A; SOUZA, H.A.L; MENDONÇA, X.M.F. et al. Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v.3, n.2, p.97-108, 2009.
- TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. *Journal Animal Science*, v.76, n.4, p.291-303, 2005.
- THOLSTRUP, T; EHNHOLM, C; JAUHAINEN, M. et al. Effects of medium-chain fatty acids and oleic acid on blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.79, n.4, p.564-569, 2004.
- TONIAL, I.B.; OLIVEIRA, D.F.; BRAVO, C.E.C. et al. Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (*Salmo salar* L.). *Alimentos e Nutrição*, v.21, n.1, p.93-98, 2010.
- TSIMIKAS, S.; PHILIS-TSIMIKAS. A.; ALEXOPOULOS, S. et al. LDL isolated from Greek subjects on a typical diet or from American subjects on an oleate-supplemented diet induces less monocyte chemotaxis and adhesion when exposed to oxidative stress. *Arteriosclerosis Thrombosi, and Vascular Biology*, v.19, n.1, p.122-130, 1999.
- TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. *Journal of Fish Science*, v.1, n.2, p.97-103, 2007.
- TURPEINEN, A.A.; YLONEN, N.; VON WILLEBRAND, E. et al. Immunological and metabolic effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid in subjects with birch pollen allergy. *The Journal of Nutrition*, v.100, n.1, p.112-119, 2008.

- TURPEINEN, A.M; MUTANEN, M; ARO, A. et al. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.79, n.3, p.504-510, 2002.
- ULBRICHT, T.L.V; SOUTHGATE, D.A.T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet*, v.338, p.985-992, 1991.
- URANO, F.S. Grão de soja e bagaço de cana-de-açúcar *in natura* na alimentação de ovelhas de raça Santa Inês. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP. 2009. 115f. (Tese, doutorado em Ciência Animal e Pastagem).
- WIJLEN, R.P.J.V.; COLOMBANI P.C. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid with estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. *International Dairy Journal*, v.20, n.7, p.433-448, 2010.
- WILLIAMS, C.H.; Dietary fatty acids and human health. *Annales de Zootechnie*, v.49, n.3, p.165-180, 2000.

## 7. ANEXOS

Anexo 1. Composição centesimal e química das dietas experimentais com diferentes níveis de óleo de girassol fornecidas a vacas em lactação

Ingredientes (%)	Nível de inclusão de óleo de girassol (% da matéria seca da dieta)			
	0,0	1,5	3,0	4,5
Cana-de-açúcar	60,00	60,00	60,00	60,00
Polpa cítrica	8,50	11,80	16,80	17,00
Fubá de milho	16,50	10,90	3,90	2,00
Farelo de soja	13,30	13,80	14,25	14,40
Óleo de girassol	0,00	1,50	3,00	4,50
Uréia + SA (9:1) <sup>1</sup>	1,05	1,05	1,05	1,05
Suplemento mineral-vitamínico <sup>2</sup>	0,96	0,98	1,03	1,06
<b>Composição química</b>				
Matéria seca (%)	51,19	52,48	50,34	48,77
Matéria orgânica <sup>3</sup>	98,08	94,33	93,16	95,27
Proteína bruta <sup>3</sup>	12,73	12,32	12,11	12,29
Extrato etéreo <sup>3</sup>	1,80	3,43	4,77	6,21
Nitrogênio não-proteico <sup>4</sup>	52,12	51,74	51,42	51,11
Nitrogênio insolúvel em detergente neutro <sup>4</sup>	20,82	21,75	23,29	23,20
Nitrogênio insolúvel em detergente ácido <sup>4</sup>	10,49	10,75	11,16	11,13
Fibra em detergente neutro corrigida cinza e proteína <sup>1</sup>	31,07	31,18	31,47	31,34
Carboidratos não-fibrosos corrigidos cinza e proteína <sup>1</sup>	50,12	45,91	44,78	43,51
Lignina <sup>1</sup>	3,09	3,25	3,52	3,52

<sup>1</sup> SA=sulfato de amônio; <sup>2</sup> mistura mineral comercial

<sup>3</sup>% MS; <sup>4</sup> % do N total

Anexo 2. Composição do leite de vacas Holandês x Gir alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com níveis crescentes de óleo de girassol na matéria seca da dieta

Variáveis	Nível de OG na dieta (% da matéria seca)				EPM <sup>1</sup>	Equação de regressão
	0,0	1,5	3,0	4,5		
Gordura (g/100g)	3,45	3,29	2,92	2,63	0,2204	$\hat{y}=3,50-0,18x$ $r^2=0,41$
Proteína (g/100g)	3,02	2,78	2,96	2,92	0,0945	ns
Lactose (g/100g)	4,32	4,38	4,42	4,24	0,0908	ns

Sólidos totais (g/100g)	11,78	11,36	11,18	10,64	0,3306	$\hat{y}=11,77-0,23x$ $r^2=0,38$
Extrato seco desengordurado (g/100g)	8,32	8,06	8,26	8,00	0,1550	ns

<sup>1</sup>EPM = Erro-padrão da média; <sup>2</sup>ns = não-significativo (P>0,05).

Anexo 3. Perfil de ácidos graxos - AG (g/100 g de AG totais) da cana de açúcar, óleo de girassol e dos tratamentos contendo níveis crescentes de inclusão de óleo de girassol (OG) com base na matéria seca (MS)

Ácido graxo (g/100 g de AG totais)	Cana-de- açúcar (média)	Óleo de girassol (média)	Tratamentos			
			0	1,5	3,5	4,0
C10:0	0,60	0,00	0,20	0,21	0,18	0,13
C12:0	1,03	0,00	0,07	0,06	0,04	0,03
C14:0	0,82	0,05	0,14	0,12	0,11	0,10
C15:0	0,5	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
C16:0	24,03	7,54	16,85	11,73	10,04	9,09
C16:1 <i>cis</i> -9	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
C16:1 <i>trans</i>	9,21	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00
C16:1 <i>cis</i>	3,27	0,00	0,19	0,13	0,13	0,12
C17:0	0,39	0,00	0,13	0,09	0,08	0,08
C18:0	3,90	3,56	3,31	3,48	3,62	3,48
C18:1 isômeros <i>trans</i>	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00
C18:1 <i>cis</i> -9	11,34	22,07	27,23	24,84	23,36	22,75
C18:1 (isômeros posicionais)	0,90	0,00	27,23	24,84	23,36	22,75
C18:2 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12	0,00	59,94	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:2 <i>cis</i> , <i>cis</i>	28,55	0,00	45,41	53,65	57,50	59,55
C18:3 n-3	9,48	0,00	3,66	2,41	2,32	2,20
C20:0	1,57	0,26	0,48	0,35	0,30	0,28
C20:1	0,93	0,00	0,24	0,19	0,15	0,18
C20:1 <i>cis</i> -11	0,00	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:3 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12 <i>cis</i> -15	0,00	1,36	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:0	0,98	0,58	0,28	0,48	0,55	0,57
C24:0	2,17	0,22	0,36	0,37	0,32	0,27
C24:1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00