

**DANIELLA CRISTINE FIALHO LOPES**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA  
ADICIONADA DE ÁCIDO LINOLÉICO  
CONJUGADO E ENSAIO CLÍNICO EM MULHERES  
OBESAS**

Faculdade de Farmácia da UFMG  
Belo Horizonte, MG  
2010

## **Folha de Aprovação**

**[A ser substituída pela versão definitiva após a defesa, no momento da reprodução e encadernação. Será fornecida pela Secretaria do Programa]**

Dedico este trabalho aos meus filhos  
Felipe e Bruno, ao Ricardo e à minha família.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e determinação para chegar até aqui.

Aos meus pais, Daniel e Narcisa, pela vida, educação e exemplo. Agradeço o amor, aconchego e cuidado oferecido em todos os momentos, sempre confiando em mim e apoiando as minhas decisões. Tudo que sou hoje e o que conquistei, devo a vocês! Com todo meu amor!

Aos meus filhos Bruno e Felipe, que surgiram no final desta etapa da minha vida, me motivando ainda mais e me oferecendo a felicidade de conhecer o amor no seu sentido mais pleno e sublime. Cada sorriso e balbúcio fazem tudo valer à pena!

Ao Ricardo, meu companheiro de vida, pelos bens mais preciosos de nossas existências, nossos filhos, pelos maravilhosos momentos de descontração, pelo incentivo constante, por toda confiança depositada em mim. Agradeço, ainda, a ajuda na elaboração deste trabalho.

À Dri, minha irmã e melhor amiga, agradeço o companheirismo, as conversas, as risadas, os choros, os longos telefonemas, e agora, a sua presença constante, importante não só para mim, mas para os meninos. Amo você! Agradeço também ao Louis, meu cunhado, amigo e companheiro.

Aos meus irmãos Sérgio e Rafa, pelo amor e confiança. Sérgio, apesar da distância física, sempre presente. Rafa, meu companheirinho, sempre carinhoso. Amo vocês! Agradeço também à Kátia e Juliana, mais que minhas cunhadas, minhas irmãs!

À tia Perpétua, agora mais que tia, pelo carinho, amor e confiança, além da imensa ajuda no cuidado com os meninos, dois de seus 6 netos.

Às minhas grandes amigas Vic e Maria Rita, pela amizade, carinho e apoio, além dos cafés, por toda esta jornada. Muito obrigada!

A todos os meus familiares e amigos, pelos momentos de felicidade.

À Prof. Dra. Marialice Pinto Coelho Silvestre, responsável pela qualidade científica deste trabalho. Agradeço por me indicar os caminhos para conquistar o *saber* neste estudo. Obrigada pela confiança, paciência e respeito, em relação à formação profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Emerson Silami Garcia, membro da banca, pela disponibilidade e pelos conhecimentos passados. Agradeço a recepção a mim e minhas colaboradoras em seu laboratório de altíssimo nível.

Aos professores membros da banca examinadora: Profa. Dra. Luciana Ferreira da Rocha Sant'Ana, Profa. Dra. Lúcia Peret de Almeida, Prof. Dr. David Lee Nelson, pelas valiosas contribuições, de forma a enriquecer este trabalho.

Ao Prof. Dr. Hélio Chiarini, por disponibilizar o microscópio ótico de seu Laboratório no ICB-UFMG, para a realização de uma etapa deste trabalho. Agradeço também seu auxílio na interpretação dos resultados.

A Profa. Dra. Cléia Batista Ornellas, Ao Prof. Dr. Álvaro Luiz Lage Alves e ao Prof. Dr. Romero Alves Teixeira por contribuírem na realização deste trabalho.

Ao Prof. M.Sci. Kelerson, do Uni BH, pela valiosa contribuição na realização do experimento clínico.

Ao Centro Universitário de Belo Horizonte – UNI-BH, pela confiança e respeito dedicados durante os anos de trabalho nesta instituição. Principalmente à Profa. Dra. Joana Ferreira do Amaral, mais que minha superior, uma amiga. Obrigada pela confiança e paciência.

À Cemil, indústria de laticínios, com sede em Patos de Minas, por todo o processamento da bebida láctea desenvolvida neste estudo. Em especial ao Diretor Ayrton, ao Edilson e Henrique. Imensurável a contribuição de vocês.

À empresa Lipid Nutrition pela doação do CLA.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, que participaram ativamente da minha formação profissional e incentivaram a busca contínua do conhecimento.

Às funcionárias do CPGCA, Úrsula e Marilene, pela conversa amiga, apoio e auxílio em todos os assuntos administrativos.

Ao funcionário do laboratório de Bromatologia Marcos Costa Lage, pela alegria e boa vontade sempre!

Ao grupo de amigos do Laboratório de Bromatologia/Pesquisa. Pelo companheirismo e carinho de todos. Em cada etapa deste estudo há um representante:

À toda a equipe, pelas discussões científicas e pela participação no trabalho prático.

Ao Wendel, pela ajuda imensa nas negociações com as empresas, além da contribuição direta na Cemil, para a produção das bebidas.

À Tati, Letícia, Regiane, Débora, e, em especial, à Thaís. Vocês se doaram a este trabalho e demonstraram um grande compromisso e amizade durante todo o período que passamos juntas. Sem vocês, este trabalho não teria se realizado!

À Vivi, novamente juntas nesta etapa da minha vida. Pessoa incrível e única. Obrigada por toda a ajuda!

À todos que através dos estágios, me ajudaram muito na parte prática do trabalho.

Ao Mauro, pela ajuda em toda parte burocrática ligada às agências de fomento e fundação. Agradeço também a confiança.

À todos amigos que conheci no laboratório, Raquel e Harriman, mais uma vez, Wendel, Carlos, Mariana, Malena, Camilla, Lidiane, Letícia Lima, Karen, Gabriella, Flávia, Priscila, Nicole, Paula, pela ajuda, palavra amiga e sorriso junto ao “bom dia”.

À todos que de alguma forma contribuíram com a realização deste trabalho.

“Toda tarefa, por mais nobre que seja, está destinada a enfrentar problemas e obstáculos. É importante avaliar por completo a finalidade a que nos propomos e quais são os fatores que determinam a nossa conduta. É importante que a pessoa seja verdadeira, honesta e sensata.

Suas ações devem ser tão boas para os outros quanto para si própria”.

(DALAI - LAMA)

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	12
LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS .....	14
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	16
RESUMO .....	18
ABSTRACT .....	21
INTRODUÇÃO .....	24
OBJETIVOS .....	28
OBJETIVO GERAL .....	28
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
REVISÃO DE LITERATURA.....	30
1 ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO (CLA).....	30
1.1 Características gerais .....	30
1.2 Efeitos fisiológicos.....	31
1.2.1 Sobre a composição corporal e marcadores bioquímicos .....	32
1.2.2 Outros efeitos .....	37
1.3 Comercialização do CLA.....	39
2 OBESIDADE .....	40
2.1 Obesidade e CLA.....	43
3 BEBIDAS LÁCTEAS E EMULSÕES .....	43
3.1 Características gerais e desenvolvimento .....	43
3.2 Estabilidade de emulsões .....	44
3.3 Inspeção visual .....	45
3.4 Determinação do tamanho das gotículas em emulsões lipídicas .....	45
3.5 Análise sensorial .....	46
4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL.....	47
4.1 Avaliação da composição corporal.....	47
4.2 Avaliação dietética .....	49
4.3 Exames bioquímicos .....	50
5 MÉTODOS PARA ESTIMAR O GASTO ENERGÉTICO .....	51
5.1 Calorimetria direta .....	52
5.2 Calorimetria indireta.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
TRABALHO EXPERIMENTAL .....	68
APRESENTAÇÃO.....	68
CAPÍTULO I .....	71
DISPONIBILIDADE DE ALIMENTOS FONTES DE ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO (CLA) NO BRASIL .....	71
RESUMO.....	71
1 INTRODUÇÃO .....	72
2 METODOLOGIA.....	73
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	73
4 CONCLUSÃO.....	76
5 REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS .....	77



<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>80</b>
<b>AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO EM BEBIDA LÁCTEA SABOR CHOCOLATE</b> .....	<b>80</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>80</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>81</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>82</b>
<b>2.1 MATERIAL</b> .....	<b>82</b>
<b>2.2 MÉTODOS</b> .....	<b>82</b>
<b>2.2.1 Preparo da bebida láctea sabor chocolate</b> .....	<b>82</b>
<b>2.2.2 Avaliação da incorporação do CLA à bebida láctea sabor chocolate</b> .....	<b>83</b>
<b>2.2.2.1 Inspeção visual</b> .....	<b>84</b>
<b>2.2.2.2 Determinação do tamanho das gotículas de gordura</b> .....	<b>84</b>
<b>3 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>85</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>85</b>
<b>4.1 Incorporação do CLA à bebida láctea</b> .....	<b>85</b>
<b>4.1.1 Inspeção visual</b> .....	<b>85</b>
<b>4.1.2 Tamanho das gotículas de gordura</b> .....	<b>87</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>90</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>91</b>
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>94</b>
<b>ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDAS LÁCTEAS SABOR CHOCOLATE, ADICIONADAS DE ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO E DE ÓLEO DE CANOLA</b> .....	<b>94</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>94</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>95</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>96</b>
<b>2.1 MATERIAL</b> .....	<b>96</b>
<b>2.2 MÉTODOS</b> .....	<b>96</b>
<b>2.2.1 Preparo das bebidas lácteas</b> .....	<b>96</b>
<b>2.2.2 Análise Sensorial das bebidas lácteas</b> .....	<b>98</b>
<b>2.2.2.1 Avaliação Sensorial</b> .....	<b>98</b>
<b>2.2.2.1.1 Teste triangular para similaridade – Primeira Etapa</b> .....	<b>98</b>
<b>2.2.2.1.2 Teste afetivo de aceitação - Segunda Etapa</b> .....	<b>99</b>
<b>2.2.2.1.3 Teste afetivo de aceitação – Terceira Etapa</b> .....	<b>99</b>
<b>3 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>100</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>100</b>
<b>4.1 Teste triangular para similaridade</b> .....	<b>100</b>
<b>4.2 Teste afetivo de aceitação – Segunda Etapa</b> .....	<b>101</b>
<b>4.3 Teste afetivo de aceitação – Terceira Etapa</b> .....	<b>103</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>105</b>
<b>6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>105</b>
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	<b>108</b>
<b>PRODUÇÃO EM LARGA ESCALA DE BEBIDAS LÁCTEAS SABOR CHOCOLATE ADICIONADAS DE ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO E DE ÓLEO DE CANOLA</b> ....	<b>108</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>108</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>109</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>110</b>
<b>2.1 MATERIAL</b> .....	<b>110</b>
<b>2.2 MÉTODOS</b> .....	<b>111</b>
<b>2.2.1 Produção em escala industrial das bebidas lácteas sabor chocolate</b> .....	<b>111</b>
<b>2.2.2 Determinação da composição química das bebidas lácteas</b> .....	<b>111</b>

2.2.3 Avaliação da estabilidade das bebidas lácteas .....	113
2.2.3.1 Determinação do pH .....	113
2.2.3.2 Avaliação da oxidação lipídica .....	113
2.2.4 Análise sensorial das bebidas lácteas .....	113
3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	114
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	114
4.2 Estabilidade das bebidas lácteas .....	116
4.3 Parâmetros sensoriais das bebidas lácteas .....	118
5 CONCLUSÃO.....	120
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	121
CAPÍTULO V .....	124
AVALIAÇÃO DA GORDURA CORPORAL DE MULHERES OBESAS SEGUNDO ANTROPOMETRIA, BIOIMPEDÂNCIA E ABSORTOMETRIA RADIOLÓGICA DE DUPLA ENERGIA .....	124
RESUMO .....	124
1 INTRODUÇÃO .....	125
2 MÉTODOS .....	126
2.1 População de estudo.....	126
2.2 Delineamento experimental .....	127
2.3 Antropometria .....	127
2.4 Bioimpedância Elétrica (BIA).....	128
2.5 Absortometria radiológica de dupla energia (DEXA) .....	128
3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	128
4 RESULTADOS .....	129
5 DISCUSSÃO .....	132
6 CONCLUSÃO.....	135
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	135
CAPÍTULO VI.....	139
EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO, ADICIONADO À BEBIDA LÁCTEA, EM MULHERES OBESAS .....	139
RESUMO .....	139
1 INTRODUÇÃO .....	140
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	142
2.1 MATERIAL .....	142
2.2 MÉTODOS.....	142
2.2.1 Preparo das bebidas lácteas .....	142
2.2.2 Escolha da população de estudo .....	143
2.2.3 Delineamento experimental .....	143
2.2.4 Avaliação antropométrica .....	144
2.2.5 Avaliação da composição corporal por absortometria radiológica de dupla energia (DEXA).....	144
2.2.6 Avaliação do consumo alimentar .....	144
2.2.7 Avaliação da taxa de metabolismo de repouso .....	145
2.2.8 Avaliação dos parâmetros bioquímicos .....	145
2.2.9 Avaliação de efeito adverso.....	146
3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	146
4 RESULTADOS .....	146
4.1 Caracterização da amostra .....	146
4.2 Composição corporal, consumo alimentar e taxa metabólica de repouso .....	147
4.3 Parâmetros bioquímicos .....	148

4.4 Efeito adverso .....	150
5 DISCUSSÃO .....	150
6 CONCLUSÃO.....	155
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	156
CONCLUSÕES INTEGRADAS.....	159

## LISTA DE TABELAS

### Revisão de literatura

Tabela 1 – Efeitos benéficos à saúde atribuídos ao CLA. ....	29
Tabela 2 – Dados sobre algumas marcas comerciais do CLA .....	38

### Capítulo 1

Tabela I.1 – Teor de CLA em alimentos considerados fontes de CLA.....	72
Tabela I.2 – Consumo de CLA e gordura: dados da literatura e estimativa avaliada.....	73

### Capítulo 2

Tabela II.1 – Velocidade de agitação para o preparo da bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA. ....	82
Tabela II.2 – Inspeção visual das amostras de bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA.....	84
Tabela II.3 - Tamanho das gotículas de gordura das amostras de BECLA agitadas em liquidificador ou em ultraturrax.....	87

### Capítulo 3

Tabela III.1 – Aceitação e intenção de compra das amostras de bebida láctea adicionada de CLA ou canola.....	100
Tabela III.2 – Aceitação e intenção de compra das amostras de bebida láctea adicionada de CLA.....	102

### Capítulo 4

Tabela IV.1 - Composição química das bebidas lácteas.....	112
Tabela IV.2 – Aceitação e intenção de compra das amostras de bebida láctea adicionada de CLA ou canola.....	117

## Capítulo 5

Tabela V.1 - Características descritivas das voluntárias que participaram do estudo (n = 28).....	127
Tabela V.2 – Percentual de gordura corporal estimado por DEXA, bioimpedância e antropometria.....	128
Tabela V.3 – Comparação dos percentuais de gordura corporal obtidos por três diferentes métodos de avaliação corporal.....	128
Tabela V.4 – Correlação do IMC com os percentuais de gordura corporal, estimados através de três diferentes métodos.....	129

## Capítulo 6

Tabela VI.1 – Características físicas e composição corporal, das mulheres obesas, dos grupos placebo e CLA.....	145
Tabela VI.2 – Efeito da suplementação dietética com CLA, adicionado à bebida láctea, versus placebo sobre a composição corporal, o consumo alimentar e a taxa metabólica de repouso.....	146
Tabela VI.3 - Efeito da suplementação dietética com CLA, adicionado à bebida láctea, versus placebo sobre a glicose de jejum, lipídeos séricos, transaminases e proteína C reativa.....	147

## LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

### Revisão de literatura

Figura 1 - Estrutura química do ácido linoléico e dois de seus isômeros, cis-9,trans-11-CLA, trans-10, cis-12-CLA.....28

### Trabalho Experimental

Figura 1 – Fluxograma da parte experimental desenvolvida neste trabalho. CLA: ácido linoléico conjugado. BECLA: bebida láctea sabor chocolate, adicionada de CLA..... 68

### Capítulo 2

Figura II.1 – Fluxograma de preparo da bebida láctea sabor chocolate..... 81

Figura II.2 – Fotomicrografias das amostras de BECLA agitadas em liquidificador por 1 min (L1), 3 min (L3) e 5 min (L5); e agitadas em ultraturrax por 1 min (U1), 3 min (U3) e 5 min (U5). As análises foram feitas após duas horas de repouso, para ambos os procedimentos..... 86

### Capítulo 3

Figura III.1 – Fluxograma de preparo das bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA (BECLA) ou de Canola (BECAN)..... 95

Gráfico III.1 – Percentual da população capaz de diferenciar o sabor do CLA em relação ao canola em bebida láctea sabor chocolate, calculado por aproximação normal do teste binomial..... 99

Gráfico III.2 – Frequências de respostas relativas à aceitação das bebidas lácteas sabor chocolate adicionada de CLA (BECLA) ou de canola (BECAN).....101

Gráfico III.3 – Frequências de respostas relativas à aceitação das bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de 1,25% (BECLA 1,25%) ou de 2,5% (BECLA 2,5%) de CLA.....102

## Capítulo 4

Figura IV.1 – Fluxograma da produção industrial das bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA (BECLA) ou de óleo de canola (BECAN).....	110
Figura IV.2 – Efeito do tempo de armazenamento sobre os valores de pH das bebidas lácteas adicionadas de CLA (BECLA) ou canola (BECAN). Os resultados representam a média das triplicatas.....	115
Figura IV.3 – Efeito do tempo de armazenamento sobre os valores de TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico) das bebidas lácteas adicionadas de CLA (BECLA) ou canola (BECAN).....	115
Gráfico IV.1 – Frequências de respostas relativas à aceitação das bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA (BECLA), de canola (BECAN) e comercial.....	118

## Capítulo 5

Figura V.1 – Comparação da classificação de sobrepeso e eutrofia por IMC, com o %GC avaliado por DEXA.....	129
--	-----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADQ - Análise Descritiva Quantitativa

AG – Ácidos Graxos

Ag+-CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com coluna impregnada de prata

BECAN – Bebida Láctea Sabor Chocolate Adicionada de Canola

BECLA – Bebida Láctea Sabor Chocolate Adicionada de CLA

BIA – Bioimpedância Elétrica

CCK - Colecistocinina

CLA – Ácido Linoléico Conjugado

CO<sub>2</sub> – Gás Carbônico

DC - Dobras Cutâneas

DEXA – Absortometria Radiológica de Dupla Energia

DLS - Espalhamento de Luz Dinâmico (dynamic light scattering)

GC – Cromatografia Gasosa

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade

IA – Ingestão Alimentar

IGF-1 - Fator 1 de Crescimento Insulina-Símile

IL-1 $\beta$  - Interleucinas 1 $\beta$

IL-6 - Interleucina-6

IL-8 – Interleucina 8

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade

MCP-1 - Proteína 1 Quimioatrativa de Macrófagos

MO - Microscopia Ótica

NPY - Neuropeptídeo Y

O<sub>2</sub> – Oxigênio

PAI-1 - Inibidor 1 de Ativador de Plasminogênio

PCS – “Photon Correlation Spectroscopy

QFCA - Questionário de Frequência de Consumo Alimentar

QR – Quociente Respiratório

R24h - Recordatório 24h

TAB - Tecido Adiposo Branco



TAM - Tecido Adiposo Marrom

TBARS – Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TMB – Taxa de Metabolismo Basal

TMR – Taxa de Metabolismo de Repouso

TNF- $\alpha$  - Fator- $\alpha$  de Necrose Tumoral

UAT - Ultra Alta Temperatura

UCP – Uncoupling Proteins

VCO<sub>2</sub> – Volume de Gás Carbônico

VO<sub>2</sub> – Volume de Oxigênio

## RESUMO

O objetivo deste trabalho consistiu em desenvolver uma bebida láctea sabor chocolate, adicionada de ácido linoléico conjugado - CLA (BECLA) e avaliar o seu efeito na suplementação de dietas de mulheres obesas. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Parecer nº ETIC 400/05, em anexo) e recebeu recurso da FAPEMIG (Edital Universal 2006 – 466/06). Inicialmente, visando escolher o alimento a ser desenvolvido no presente trabalho, foi realizado um estudo sobre a estimativa do consumo de CLA no Brasil, usando como alimentos-fontes o leite de vaca e seus derivados (queijo, iogurte, creme de leite, leite condensado e manteiga), além da carne de gado bovino. Foram utilizados os dados obtidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, por meio da Pesquisa de Orçamentos Familiares (2002-2003). Verificou-se que o consumo estimado de CLA no Brasil é de 637,9 mg.g<sup>-1</sup> de gordura, considerando os alimentos citados acima. Após este levantamento, decidiu-se por desenvolver uma bebida láctea sabor chocolate, adicionada de CLA. Sendo assim, partiu-se para a etapa laboratorial. Primeiro, foram feitos os experimentos para se encontrar a melhor forma de incorporar o CLA, na forma oleosa, à bebida láctea, minimizando a separação das fases da emulsão. Foram testados o tipo de equipamento (liquidificador doméstico e ultraturrax) e o tempo de agitação da mistura (1, 3 e 5 min). O uso do liquidificador doméstico (velocidade 1, 11.500 rpm, por 3 min) foi mais eficiente que o ultraturrax (11.000 rpm, por 5 min), levando a uma bebida mais estável, avaliada por inspeção visual e por microscopia ótica. Por este método, ainda foi possível verificar que o tamanho das gotículas de gordura variou de 2,28 µm a 11,80 µm. Em seguida, ainda no laboratório, utilizou-se a análise sensorial como ferramenta para determinar a quantidade de CLA a ser adicionada à bebida láctea sabor chocolate, evitando que este procedimento não interferisse na aceitação do produto. Para isto, aplicaram-se três testes sensoriais. Primeiro, empregou-se o teste triangular para verificar a existência de diferença sensorial entre as amostras adicionadas de CLA ou óleo de canola (BECAN). Esta última bebida foi desenvolvida para ser usada no grupo placebo do experimento clínico. Depois, o teste afetivo foi aplicado para avaliar a aceitação da BECLA e BECAN. Por último, este mesmo teste foi usado em duas bebidas lácteas sabor chocolate, adicionadas de CLA, sendo uma com 1,25% (BECLA 1,25%) e outra com 2,5% (BECLA 2,5%). No teste triangular, uma parcela de 60% da população conseguiu

diferenciar o sabor do CLA, indicando que a incorporação desta substância neste alimento deve ser feita com cautela. No teste de aceitação, a bebida láctea adicionada de óleo de canola foi preferida àquela contendo CLA. A BECLA 1,25% foi preferida em relação à BECLA 2,5%. Dando prosseguimento a este estudo e tendo como base os dados obtidos no desenvolvimento laboratorial da BECLA e da BECAN, estas bebidas foram produzidas em larga escala. Nesta etapa, foi realizado o estudo das suas características químicas, pela determinação da umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, além do cálculo do teor de carboidratos e do valor calórico. Avaliou-se, igualmente, a estabilidade das bebidas pelas medidas do pH e da estabilidade oxidativa pelo método de TBARS e, ainda, a sua aceitação final. Os resultados da composição química e da análise sensorial foram confrontados com os de uma bebida comercial. O valor energético e o teor de proteínas foram maiores na BECAN, seguido da BECLA e do produto comercial. Este apresentou a menor quantidade de lipídeos em relação às outras bebidas, sendo que a BECLA foi a que obteve o maior valor deste nutriente. Já, o teor de carboidratos foi similar na BECLA e na bebida comercial e menor na BECAN. As bebidas desenvolvidas neste trabalho obtiveram os mesmos valores de cinzas e umidade e, em relação às estas bebidas, o produto comercial apresentou os menores conteúdos do primeiro nutriente e os maiores do segundo. Não foi encontrada diferença estatística entre os valores de pH e de TBARS para a BECLA e BECAN, indicando que a adição de CLA ou óleo de canola não alterou a estabilidade do produto, durante o período do estudo. A aceitação da BECLA e da BECAN foi semelhante, e maior que a da bebida comercial. Após a produção e análise das bebidas lácteas, iniciou-se o experimento clínico. Antes da suplementação, 3 métodos de avaliação da composição corporal foram aplicados na população selecionada para a pesquisa clínica. Desta forma, os percentuais de gordura corporal (%GC), de mulheres obesas, obtidos por antropometria, bioimpedância (BIA) e absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA) foram comparados. A avaliação da gordura corporal por DEXA, dobras cutâneas (DC) e BIA apresentaram médias de 44,1%, 39,8% e 34,3%, respectivamente, e foram estatisticamente diferentes, sendo que a DEXA apresentou a maior sensibilidade, seguida das DC e BIA. O ensaio clínico foi randomizado, duplo velado e com placebo controlado, quando vinte e oito voluntárias ingeriram 400 mL de uma bebida láctea adicionada de 4 g de CLA por dia (mistura de cis9, trans11 CLA e trans10, cis12 CLA), ou placebo (óleo de canola), durante 16 semanas. A DEXA foi usada para avaliar a composição corporal no início e ao final da pesquisa e, neste mesmo intervalo, foram mensurados a ingestão alimentar (IA) e a taxa de metabolismo de repouso (TMR). Os

parâmetros bioquímicos avaliados foram a glicose de jejum, o colesterol total e suas frações, os triglicerídeos, as transaminases e a proteína C reativa, que foram medidos nos meses 0, 1, 2, 3 e 4. A suplementação dietética de CLA, adicionado a uma bebida láctea sabor chocolate, não originou mudança significativa na composição corporal, na IA e na TMR das voluntárias. Ainda, não foi observada alteração significativa nos parâmetros bioquímicos avaliados, bem como não foi relatado qualquer efeito adverso, indicando que o consumo deste ácido graxo não é prejudicial à saúde, quando consumido nas condições aqui testadas.

**Palavras-chave:** CLA, bebida láctea, obesidade, ensaio clínico, composição corporal, parâmetros bioquímicos.

## ABSTRACT

**DEVELOPMENT OF A MILK DRINK ADDED OF CONJUGATED LINOLEIC ACID AND CLINICAL TRIAL IN OBESE WOMEN.** The objective of this study research consisted in developing a chocolate flavored milk drink added of conjugated linoleic acid - CLA (BECLA) and to evaluate its effect in the dietary supplementation of obese women. The present work was approved by the Ethical Committee for Human Research of the Federal University of Minas Gerais - UFMG (Protocol No. 400/05, enclosed) and it was partially funded by the Research Foundation of Minas Gerais - FAPEMIG (Edital Universal 2006 – 466/06). Initially, aiming to choose a food that would be developed in this work, a survey was carried out on the estimates of CLA consumption in Brazil using food sources such as cow milk and its by-products (cheese, yoghurt, milk cream, condensed milk and butter), as well a beef. Data records on the Survey of Family Budgets (2002-2003) of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) were used. Those records showed an estimated CLA consumption of 637.9 mg. g<sup>-1</sup> of fat, considering the above mentioned food sources. Based on this survey, we to undertake a laboratory procedure to develop a chocolate flavored milk drink added of CLA. Experiments were conducted in search of a better way to incorporate CLA, in its oily form, to the milk beverage, in order to minimize phase separation of the emulsion. The type of equipment (domestic blender and ultraturrax) and the blending time (1, 3 and 5 min) were tested. The domestic blender with speed 1 (11,500 rpm) for 3 min was more efficient than ultraturrax (11,000 rpm) for 5 min giving rise to a more stable mixture, evaluated by visual inspection and optical microscopy. Moreover this method allowed to verify that the fat drop size varied from 2.28 µm to 12.23 µm. A sensorial analysis test was used to determine the amount of CLA to be added to the milk drink in order to avoid any interference on the acceptance of the product. Three sensorial tests were applied. First, the triangular test was employed to verify the existence of sensorial difference between samples added of CLA and Canola oil (BECAN). This last beverage was developed to be used in the placebo group of the clinical experiment. Afterwards, the affective test was applied to evaluate the acceptance of BECLA and BECAN. At last, this same test was used in two chocolate flavored milk drinks added of CLA, one with 1.25% (BECLA 1.25%) and other with 2.5% (BECLA 2.5%). In the triangular test, 60% of the population were able to distinguish the taste of CLA showing that its incorporation should

be done with caution. In the acceptance test, the milk drink added of canola oil was preferred to the one with CLA. BECLA 1.25% was preferred to BECLA 2.5%. Continuing the study and based on the data obtained in the laboratory procedure, the two beverages were scaled up. At that stage, a study was carried out involving the evaluation of the chemical characteristics by the determination of moisture, ashes, proteins, lipids and the calculation of the amount of carbohydrates and caloric value. The stability of both milk drinks was evaluated by the measurement of pH and the oxidative stability using the TBARS method, as well as their final acceptance. The results of the chemical composition and the sensorial analysis had been confronted with the ones of a commercial drink. The energy value and the protein amount were higher in BECAN, followed by BECLA and the commercial product. This latter showed the least amount of lipids in relation to other drinks, and BECLA was the one that showed the highest value of this nutrient. The carbohydrate content was similar in BECLA and in the commercial drink and smaller in BECAN. The drinks developed in this study had the same value of ashes and moisture and, in relation with these beverages, the commercial product showed the smallest content of the first nutrient and highest of the second. No significant difference was found between the pH and TBARS values for BECLA and BECAN which indicates that the addition of CLA or canola oil showed no influence on the product stability during the period of study. The acceptance of BECLA and BECAN was similar and better than that of the commercial drink. After the production and analysis of the milk drinks the clinical experiment was started. Before the supplementation, three methods were applied for the evaluation of corporal composition of the population selected for the experiment. Thus, body fat percentages (%GC) of obese women obtained by anthropometry, bioimpedance (BIA) and dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) were compared. The evaluation of body fat by DEXA, skinfold thickness (DC) and BIA showed averages of 44.1%, 39.8% and 34.3%, respectively, and were statistically different, with DEXA presenting the highest sensitivity, followed by DC and BIA. The clinical trial was randomized, double blind, with controlled placebo, and 28 volunteers ingested a daily amount of 400 mL of a milk drink added of 4 g of CLA (mixture of cis9, trans11CLA and trans10, cis12CLA) or placebo (canola oil) during 16 weeks. DEXA was used to evaluate the body composition at the beginning and the end of the experiment. Energy intake (EI) and the resting metabolic rate (RMR) were estimated at this same interval. The biochemical parameters that were evaluated consisted of fasting glucose, total cholesterol and its fractions, triglycerides, transaminases and reactive C protein which were measured in the months 0, 1, 2, 3 and 4. No significant change in the body composition,

EI and RMR was observed after the dietary supplementation of CLA added to the chocolate flavored milk drink. Furthermore, no significant modification was observed in the biochemical parameters, and no adverse effect was reported, indicating that the consumption of this fatty acid is not harmful to health when consumed under the conditions described here.

**Keywords:** CLA, milk drink, obesity, clinical trial, body composition, biochemical parameters.

## INTRODUÇÃO

O ácido linoléico conjugado (CLA) (C18:2n-6) refere-se a um grupo de isômeros posicionais e geométricos derivados do ácido linoléico (PARIZA *et al.*, 2001), produzido por fermentação bacteriana no trato digestivo de animais ruminantes. Desta forma, as principais fontes são o leite e seus derivados, além da carne de animais ruminantes (EVANS *et al.*, 2002).

Estima-se que a ingestão diária de CLA é de, aproximadamente, 200 mg/dia (RITZENTHALER *et al.*, 2001), sendo que o isômero predominante na dieta é o c9,t11-CLA, chegando a 90% do total deste ácido graxo em produtos lácteos (RAINER & HEISS, 2004). Já, a sua forma comercial constitui de uma mistura com maior concentração de c9,t11-CLA e t10,c12-CLA, em uma proporção de 1:1 (IP *et al.*, 2002).

O CLA tem sido objeto de várias investigações, primeiro por suas propriedades anticarcinogênicas e, depois, por outros efeitos benéficos à saúde (YANG *et al.*, 2004), como redução da gordura corporal e melhora da função imune (WHIGHAM *et al.*, 2004; O'SHEA *et al.*, 2004). Entretanto, os resultados dos estudos sobre o efeito do CLA sobre a composição corporal de humanos e os parâmetros que a influenciam, como a taxa de metabolismo de repouso (TMR) e a ingestão alimentar (IA), além de restritos, são contraditórios. Enquanto uns autores encontraram mudanças nestas variáveis, outros não relataram qualquer alteração. O mesmo ocorre para os indicadores bioquímicos, como a glicose, os lipídeos séricos, as transaminases hepáticas e os marcadores de inflamação (BLANKSON *et al.*, 2000; ZAMBELL *et al.*, 2000; MEDINA *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; PETRIDOU *et al.*, 2003; MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; GAULLIER *et al.*, 2004; WHIGHAM *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006; TRICON *et al.*, 2006; NAZARE *et al.*, 2007; LAMBERT *et al.*, 2007; LASO *et al.*, 2007; RAFF *et al.*, 2009).

As consequências do excesso de peso à saúde têm sido demonstradas em diversos trabalhos (OMS, 1990; BAUMGARTNER, *et al.*, 1995), como fator de risco para hipertensão arterial, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e algumas formas de câncer (OPAS, 2003). Na Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 do IBGE (2004), foi encontrado que 40,6% da população brasileira apresentam excesso de peso, e que, entre 1974 e 1989, a proporção de pessoas com excesso de peso aumentou de 21% para 32%.



O uso de alimentos para promover o bem estar e a saúde, inclusive o controle do peso corporal, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos alimentícios (MATSUBARA, 2001). Para atender o mercado consumidor cada vez mais exigente, a indústria de laticínios vem investindo no segmento de produtos funcionais (BRANDÃO, 2002). Neste contexto, os produtos à base de soro, como no caso das bebidas lácteas, permite, ainda, ao fabricante reduzir o custo total dos ingredientes, por ser um subproduto com menor valor econômico que o leite (DALAS, 1999).

Segundo a legislação brasileira, a bebida láctea é obtida pela mistura de leite e soro de leite, sendo que a sua base láctea deve ser composta por, pelo menos, 50% de leite (m/m). Ainda, é permitida a adição de outros componentes em sua formulação, como os cultivos de bactérias lácticas já tradicionais, os acidulantes, os aromatizantes, os reguladores de acidez, os estabilizantes, os espessantes, os emulsificantes, os corantes, os conservantes, além de pedaços de polpa ou sucos de frutas e mel (BRASIL, 1999).

O desenvolvimento de um novo alimento é um processo complexo e de natureza multidisciplinar (WILLIE *et al.*, 2004), que envolve, inicialmente, o estudo de mercado e a definição do produto e, em seguida, a elaboração de protótipos e os testes industriais (KOTLER, 2000). Neste momento, é importante conhecer a composição química, desenvolver estudos da vida de prateleira (WILLIE *et al.*, 2004) e avaliar a preferência dos consumidores pela análise sensorial (KOTLER, 2000).

A adição do CLA a uma bebida láctea requer o emprego de tecnologia adequada, devido a sua natureza lipídica, de maneira que a sua incorporação aconteça de forma a não desestabilizar a emulsão, que consiste em um sistema instável, podendo ocorrer a separação das fases a qualquer momento (McCLEMENTS, 1999). Para a manutenção de sua estabilidade, é necessário lembrar que este parâmetro está relacionado, sobretudo, à viscosidade da fase externa, que atua sobre as partículas da fase dispersa, dificultando o movimento browniano, retardando a floculação e a coalescência (PRISTA *et al.*, 1995; McCLEMENTS, 1999).

O estudo da estabilidade de emulsões consiste em avaliar a separação das fases, o tamanho e a distribuição das gotículas de gordura na fase dispersa. Para tal, as seguintes metodologias têm sido utilizadas: medição do pH, aspecto sensorial, inspeção visual e a determinação do tamanho e da distribuição das gotículas lipídicas por microscopia ótica e pelo espalhamento de luz dinâmico (DLS) (DRISCOLL, 1995;

ASPEN, 1997; DRISCOLL *et al.*, 2000, 2005; SFORZINI, 2001; USP PHARM FORUM, 2004).

Um dos pontos mais importantes no desenvolvimento de um novo alimento é a sua aceitação pelo consumidor e, para interpretar a percepção das características dos alimentos pelos sentidos humanos são usados testes sensoriais, que podem ser divididos em métodos descritivos ou analíticos, discriminativos ou de diferença e afetivos (STONE & SIDEL, 1993). Os discriminativos avaliam os aspectos quantitativos e qualitativos dos alimentos, como o teste triangular, o de comparação pareada, o duo-trio, o de similaridade, os de diferença para múltiplas amostras e a análise sequencial de Wald. Já, os descritivos determinam se existe diferença perceptível entre as amostras, como a análise descritiva quantitativa (ADQ) e o perfil de textura. Por último, os afetivos, que avaliam a preferência ou a aceitação de um produto junto ao mercado, como os testes de preferência e os de aceitação (FERREIRA *et al.*, 2000; REIS & MINIM, 2006).

Para avaliar o efeito do CLA na composição corporal são necessários métodos de determinação dos compartimentos do corpo, quantificando a gordura, a massa magra, os ossos e a água, antes e após a fase de suplementação da dieta. A escolha do método depende da população estudada, da disponibilidade de recursos, do objetivo do trabalho, dentre outros fatores (RODRIGUES *et al.*, 2001). As metodologias mais usadas são o índice de massa corporal (IMC), as dobras cutâneas (DC), a bioimpedância (BIA) e a absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA) (RECH *et al.*, 2006; LOBO *et al.*, 2004; SALEM *et al.*, 2004; GLANER & RODRIGUEZ 1999; PICHARD *et al.*, 1997; MALINA & KATZMARZ, 1999; NORGAN *et al.*, 1990). A grande quantidade de gordura localizada em obesos facilita a observação de mudanças na composição corporal, entretanto, este mesmo fato dificulta uma mensuração precisa das DC (BARBOSA *et al.*, 2001). Desta forma, é necessário fazer a escolha do melhor método para se medir, com precisão, qualquer alteração que possa ocorrer na composição corporal após uma intervenção, como no caso da suplementação da dieta com CLA.

O experimento clínico apresenta alta relevância na avaliação dos efeitos benéficos e/ou deletérios de medicamentos ou substâncias alimentares, sendo definido como qualquer pesquisa realizada com humanos, com o objetivo de descobrir ou confirmar os efeitos clínicos, farmacológicos ou farmacodinâmicos do produto investigado, ou, ainda, identificar qualquer reação adversa ou estudar a absorção, distribuição, metabolismo e excreção da substância pesquisada para verificar sua segurança e/ou eficácia (OMS, 2005).

Os experimentos clínicos com o CLA em humanos ainda são poucos e os resultados obtidos contraditórios (BLANKSON *et al.*, 2000; ZAMBELL *et al.*, 2000; MEDINA *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; PETRIDOU *et al.*, 2003; MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; GAULLIER *et al.*, 2004; WHIGHAM *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006; TRICON *et al.*, 2006; NAZARE *et al.*, 2007; LAMBERT *et al.*, 2007; LASO *et al.*, 2007; RAFF *et al.*, 2009). Além disto, não foi encontrado na literatura qualquer registro de estudos desta substância com a população brasileira, o que ressalta ainda mais a importância do presente trabalho.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho consistiu em desenvolver uma bebida láctea sabor chocolate, adicionada de CLA (BECLA) e avaliar o seu efeito na suplementação de dietas de mulheres obesas (parâmetros da avaliação nutricional e do gasto energético).

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a disponibilidade de alimentos fontes de CLA no Brasil pelas informações obtidas pelo IBGE;
- Desenvolver, em escala laboratorial, bebidas lácteas sabor chocolate, adicionadas de CLA e de óleo de canola;
- Avaliar a incorporação do CLA à bebida, por inspeção visual e microscopia ótica, variando o equipamento (liquidificador e ultraturrax) e o tempo de agitação (1, 3 e 5 min);
- Aplicar a análise sensorial para verificar se a adição de CLA ou do óleo de canola pode ser percebida e, decidir a quantidade de CLA a ser adicionada à bebida láctea,
- Produzir, em larga escala, a BECLA e a bebida láctea sabor chocolate, adicionada de óleo de canola (BECAN);
- Analisar estas bebidas quanto a sua composição química, à estabilidade oxidativa e à medida de pH;
- Aplicar a análise sensorial nas bebidas produzidas em larga escala, para avaliar a aceitação das mesmas;
- Comparar a gordura corporal de mulheres obesas por 3 diferentes metodologias, visando escolher a mais adequada para o teste clínico;

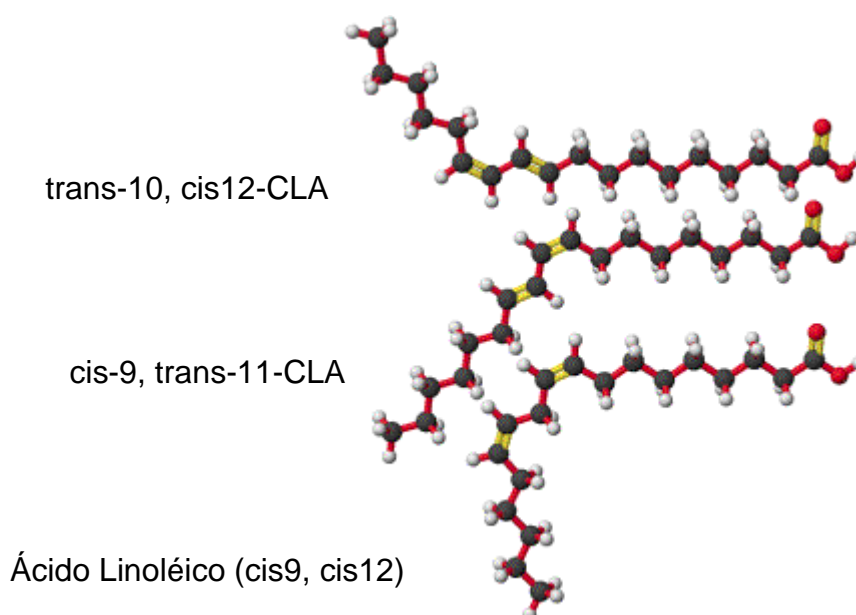
- Realizar o ensaio clínico para avaliar o efeito da suplementação dietética do CLA, adicionado à bebida láctea, sobre a composição corporal, a taxa metabólica de repouso (TMR), a ingestão alimentar (IA) e os parâmetros bioquímicos de mulheres obesas.

# REVISÃO DE LITERATURA

## 1 ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO (CLA)

### 1.1 Características gerais

O ácido linoléico conjugado (CLA) faz referência a um grupo de isômeros com duplas ligações conjugadas, isto é, separadas apenas por uma ligação simples carbono-carbono (Figura 1). Existem cinquenta e seis possíveis isômeros geométricos e de posição do CLA (YURAWECZ *et al.*, 2001), sendo que os mais comuns são o 7,9-, 8,10-, 9,11-, 10,12- e 11,13-CLA (IP *et al.*, 2002).



**Figura 1** – Estrutura química do ácido linoléico e dois de seus isômeros, cis-9, trans-11-CLA, trans-10, cis-12-CLA. Adaptado de Pariza *et al.* (2001).

O CLA é produzido no rumem pela biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados da dieta, através de fermentação bacteriana (*Butyrovibrio fibrisolvens*) que isomeriza o ácido linoléico a CLA (EVANS *et al.*, 2002). Pode, igualmente, ser formado, endogenamente, através da dessaturação do ácido graxo C18:1 trans-11 por uma enzima presente na glândula mamária e tecido adiposo, denominada esteroil-CoA dessaturase ou delta-9-dessaturase (CORL *et al.*, 2001).

A forma sintética do CLA é composta por isômeros diferentes daqueles encontrados naturalmente nos alimentos. O método tradicional usado para a síntese baseia-se numa reação alcalina, onde o ácido linoléico é o substrato. Como resultado, obtém-se uma mistura com 42% de c9t11/t9c11-CLA, 43% de t10c12-CLA e 15% de outros isômeros, além do ácido linoléico, oléico, entre outros (FUENTE *et al.*, 2006).

A purificação dos isômeros do CLA é de alto custo (BELURY, 2002) e consiste em separar os seus isômeros geométricos e posicionais. A cromatografia líquida de alta eficiência com coluna impregnada de prata (Ag<sup>+</sup> - CLAE) é o método que apresenta melhor resultado (OSTROWSKA *et al.*, 2000; ADLOF *et al.*, 2002; ADLOF, 2004; CORINO *et al.*, 2007).

## 1.2 Efeitos fisiológicos

Numerosas propriedades fisiológicas atribuídas ao CLA já foram comprovadas, incluindo funções anticarcinogênicas (IP *et al.*, 2002; MA *et al.*, 2002), antiaterogênicas (SHER *et al.*, 2003), modificações na composição corporal (PARK *et al.*, 1997; BLANKSON *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; GAULLIER *et al.*, 2004; RAFF *et al.*, 2009), modulação na função imune (TURPEINEN *et al.*, 2008), entre outras (Tabela 1).

**Tabela 1** – Efeitos benéficos à saúde atribuídos ao CLA.

<b>Ação</b>	<b>Benefícios</b>
Anticarcinogênico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inibe o crescimento tumoral – animais</li> <li>• Inibe a proliferação celular – células</li> <li>• Inibe a angiogênese – animais</li> </ul>
Antiaterogênico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduz a formação de placas – animais</li> <li>• Reduz a adesão da molécula de expressão – células</li> <li>• Inibe a formação de citocinas – animais</li> <li>• Inibe a angiogênese – animais</li> </ul>
Composição corporal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduz a deposição de gorduras – animais/humanos</li> <li>• Reduz a diabetes – animais</li> </ul>
Modulação do sistema imune	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inibe a produção da inflamação – animais/humanos</li> <li>• Aumenta a formação de anticorpos - animais/humanos</li> </ul>

Adaptado de WAHLE *et al.*, 2004.

### 1.2.1 Sobre a composição corporal e marcadores bioquímicos

Estudos com animais, que consumiram dietas suplementadas com CLA, demonstram a capacidade desta substância em reduzir a gordura corporal e aumentar a massa magra (PARK *et al.*, 1997; OSTROWSKA *et al.*, 1999; COOK *et al.*, 2000; KOBAYASHI *et al.*, 2002; HARGRAVE *et al.*, 2004; BHATTACHARYA *et al.*, 2005; KLOSS *et al.*, 2005). Várias hipóteses são levantadas para tentar explicar como o CLA induz mudanças na composição corporal, como o aumento do gasto energético e/ou da oxidação lipídica e a inibição de enzimas envolvidas no metabolismo dos ácidos graxos (PARK *et al.*, 1997; RAHMAN *et al.*, 2001, WEST *et al.*, 2000; HARGRAVE *et al.*, 2004; WARGENT *et al.*, 2005).

PARK *et al.* (1997) verificaram uma redução de 60% da deposição da gordura corporal de camundongos suplementados com 0,5% de CLA (mistura de isômeros) durante 30 dias. Para estes pesquisadores, os efeitos podem ser resultado do aumento da lipólise, aumento da oxidação de ácidos graxos (evidenciado pelo aumento da atividade da carnitina palmitoil tranferase - CPT), ou pela redução da captação de ácidos graxos pelos adipócitos. A carnitina é necessária para a oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, facilitando a transferência do acil-CoA através da membrana mitocondrial, onde ocorre o processo de  $\beta$ -oxidação (MAHAN & ESCOTT-STAMP, 2005; CURI *et al.*, 2003).

RAHMAN *et al.* (2001) também observaram aumento na atividade da CPT no tecido adiposo marrom, tecido adiposo perirenal, tecido muscular e fígado em ratos OLEFT (modelo animal obeso/diabético) suplementados com 1% de CLA.

Camundongos alimentados com uma dieta suplementada com 5% de CLA (C18:2 trans-10, cis-12) durante 3 semanas, tiveram uma diminuição de 82% de deposição de gordura subcutânea, comparado ao grupo controle com dieta contendo 5% de ácido linoléico (COOK *et al.*, 2000). As diferenças no percentual de redução da gordura corporal, encontradas nos trabalhos com camundongos, podem ser explicadas pelo uso de modelos animais variados, além da espécie, sexo e idade diferentes, fatores que podem interferir diretamente no metabolismo energético (TERPSTRA, 2001).

TERPSTRA *et al.* (2002) realizaram um trabalho para avaliar se os efeitos do CLA na redução de gordura corporal são devido a um aumento do gasto energético. Assim, camundongos em fase de crescimento, foram submetidos ou não a uma dieta restrita e suplementados ou não com uma mistura de isômeros de CLA (0,93g/100g de dieta), por 39 dias. A energia presente na carcaça, na comida e nas fezes foi medida através de



uma bomba calorimétrica. O CLA diminuiu a porcentagem de energia ingerida que foi armazenada na carcaça de 1,0 para -2,3 em animais com dietas não restritas e em 1,3 para -2,9 para animais com dietas restritas. Os valores negativos nos grupos recebendo CLA indicam que os animais ficaram em balanço negativo, ou seja, nenhuma energia foi estocada. A menor quantidade de energia estocada na carcaça foi um reflexo do aumento de 74% no gasto energético. Em um outro experimento, com o mesmo delineamento, houve redução da deposição da gordura corporal em até 88% e um balanço negativo, comprovando o aumento do gasto energético (WEST *et al.*, 1998).

Para tentar explicar o aumento do gasto energético em camundongos alimentados com dietas suplementadas com CLA, WEST *et al.* (2000) investigaram a expressão dos genes das “uncoupling proteins” (UCP), na mitocôndria de camundongos alimentados com dietas ricas em lipídeos contendo 1% de CLA (mistura de isômeros) durante 5 semanas. A UCP-1, que é expressa, exclusivamente, no tecido adiposo marrom, está envolvida na manutenção da temperatura interna em camundongos. Uma alteração na expressão dos genes destas proteínas seria esperada para explicar a redução da deposição de gordura corporal, sem a redução da ingestão de alimentos. Entretanto, os autores encontraram somente alteração na expressão da UCP-2, cujo papel na termogênese parece ser insignificante.

Os efeitos do CLA parecem ser dose dependente. OSTROWSKA *et al.* (1999) estudaram o efeito de diferentes doses de CLA sobre a composição corporal de suínos. Os animais foram divididos em seis tratamentos, contendo 0 g, 1,7 g; 1,4 g; 2,75 g, 4,1 g e 5,5 g de CLA por Kg de dieta. Estes autores demonstraram que a redução na espessura de gordura subcutânea foi diretamente relacionada ao aumento das doses de CLA administrada a estes animais. A dose máxima de CLA levou a uma diminuição de 31% da deposição de gordura.

Em contrapartida, ratos adultos, submetidos a uma atividade física moderada, e alimentados com dietas contendo 1% de um dos isômeros do CLA (cis 9, trans 11 CLA ou trans 10, cis 12 CLA) ou 2% da mistura destes, não apresentaram qualquer mudança na composição corporal (BHATTACHARYA *et al.*, 2005), indicando que os efeitos do CLA na modulação dos compartimentos corporais dos animais na fase adulta não é tão marcante como naqueles em crescimento. Ainda, estes efeitos variam com a espécie, sendo que os camundongos são os que apresentam melhor resposta (WAHLE *et al.*, 2004). Neste modelo animal, igualmente, foi observado o desenvolvimento de liposdistrofia e aumento de gordura hepática (TSUBOYAMA-KASAOKA *et al.*, 2000), entretanto não há o relato deste efeito em nenhuma outra espécie ou em humanos.

Os resultados encontrados em animais nem sempre são válidos para humanos, devido a grandes variações, como por exemplo, nos requerimentos de nutrientes e nas taxas de metabolismo (TERPSTRA, 2001). Desta forma, apesar de existirem evidências sobre as mudanças na composição corporal, no metabolismo, na ingestão alimentar e nos parâmetros bioquímicos em animais, induzidas pelo CLA, investigações sobre os efeitos deste ácido graxo em humanos ainda são poucas e contraditórias (REINER & HEISS, 2004). Alguns autores não encontraram qualquer mudança nos componentes da composição corporal, ou nos parâmetros que podem alterá-la, como na ingestão alimentar (IA) ou na taxa metabólica de repouso (TMR) (ZAMBELL *et al.*, 2000; MEDINA *et al.*, 2000; MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006; NAZARE *et al.*, 2007); enquanto outros relataram alguma alteração, principalmente uma redução da gordura corporal (BLANKSON *et al.*, 2000; GAULLIER *et al.*, 2004; LASO *et al.*, 2007; RAFF *et al.*, 2009). O mesmo ocorre em relação aos parâmetros bioquímicos, uma vez que em alguns experimentos foi observado um aumento da glicose de jejum (RISÉRIUS *et al.*, 2001; TRICON *et al.*, 2004) e alterações nos lipídeos séricos (GAULLIER *et al.*, 2004; TRICON *et al.*, 2004; LAMBERT *et al.*, 2007; THOLSTRUP *et al.*, 2008). Entretanto, na maioria dos trabalhos encontrados na literatura, a suplementação dietética com CLA não alterou a glicose de jejum, lipídeos séricos ou marcadores de inflamação (BLANKSON *et al.*, 2000; BERVEN *et al.*, 2000; PETRIDOU *et al.*, 2003; TAYLOR, *et al.*, 2006; TRICON *et al.*, 2006; GAULLIER *et al.*, 2007; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007).

Dentre os estudos que foram conduzidos com o CLA em cápsula, encontram-se os de autores que relataram alguma modificação na composição corporal dos voluntários. Desta forma, GAULLIER *et al.* (2007) avaliaram o efeito de uma dose de 3,4 g x dia<sup>-1</sup> de CLA em uma população de adultos (homens e mulheres) com sobrepeso, durante 6 meses e encontraram redução no percentual de gordura corporal, principalmente nas pernas, e um aumento da massa magra, sem nenhuma mudança na massa corporal. Da mesma maneira, a suplementação de 4,5 g (GAULLIER *et al.*, 2004) e de 3,4 g (LARSEN *et al.*, 2007) de CLA em população semelhante, por um período de 1 ano, foi eficiente para reduzir o percentual de gordura e a massa corporal, além de aumentar a massa magra.

Ainda, foram encontrados dois experimentos com duração de 12 semanas, em uma população formada por homens e mulheres, onde ocorreu apenas a redução da gordura total, sem nenhuma outra mudança dos componentes da composição corporal,

sendo que BLANKSON *et al.*, (2000) testaram várias doses de CLA (1,7 a 6,8 g x dia<sup>-1</sup>), enquanto que THOM *et al.* (2001) usaram uma única dose (1,8 g x dia<sup>-1</sup>).

Para avaliar o efeito do CLA na deposição de gordura abdominal, 24 homens com idade entre 39 e 64 anos, que apresentavam uma relação cintura quadril acima de 95 cm receberam 4,2g de CLA durante 4 semanas. Houve redução do diâmetro abdominal sagital, porém o peso se manteve estável (RISÉRIUS *et al.*, 2001).

Por outro lado, foram encontrados na literatura experimentos que não registraram qualquer efeito da ingestão de CLA sobre a composição corporal, nos quais este ácido graxo foi usado na forma de cápsulas. Assim, a suplementação de CLA por 12 semanas não alterou qualquer componente da composição corporal de homens e mulheres com sobrepeso (BERVEN *et al.*, 2000; LAMBERT *et al.*, 2007). Da mesma maneira, uma dose maior de CLA (6g x dia<sup>-1</sup>) por um período de tempo mais longo (52 semanas) não provocou mudanças na gordura corporal ou massa magra, também em uma população de homens e mulheres com sobrepeso (WHIGHAM *et al.*, 2004).

Em uma pesquisa, delineada para testar os dois principais isômeros do CLA purificados (cis9, trans11 CLA e trans10, cis12 CLA), igualmente, não foi encontrada qualquer alteração na composição corporal de homens e mulheres (TRICON *et al.*, 2004).

Na literatura, foram encontrados apenas 3 relatos sobre experimentos realizados com grupos formados apenas por mulheres, todos com o CLA na forma de cápsula. Assim, mulheres adultas receberam 3 g de CLA durante 64 dias e não houve qualquer modificação na composição corporal. Entretanto, a leptina, hormônio que controla o apetite, teve uma redução nas primeiras sete semanas, voltando ao seu teor normal até o final do estudo (ZAMBELL *et al.*, 2000). PETRIDOU *et al.* (2003) investigaram o efeito do CLA na gordura corporal de 16 mulheres jovens, não obesas e sedentárias. O experimento durou 45 dias e o grupo suplementado recebeu 2,1 g/dia de CLA. Não houve diferença significativa na gordura corporal entre os tratamentos. Vale ressaltar que o tempo dos experimentos foi curto em relação aos outros encontrados. RAFF *et al.* (2009), reportaram uma redução da massa gorda e um aumento da massa magra das pernas das voluntárias que consumiram o CLA. Estes autores usaram uma dose de 5,5 g x dia<sup>-1</sup> de CLA, por um período de 4 meses, em um grupo formado por mulheres na pós menopausa, com sobrepeso.

Em alguns trabalhos encontrados na literatura, o CLA foi incorporado a uma matriz alimentar para a investigação de seus efeitos sobre a composição corporal. Em apenas 1 deles foi relatada alteração neste parâmetro. Assim, LASO *et al.* (2007),

encontraram uma redução na gordura corporal total e na presente no tronco de homens e mulheres, que tiveram a dieta suplementada com CLA, adicionado a leite. Entretanto, MALPUECH-BRUGÉRE *et al.* (2004) não relataram qualquer modificação nos componentes da composição corporal em homens e mulheres que ingeriram leite fermentado adicionado de CLA. De forma semelhante, NAZARE *et al.* (2007) não encontraram alterações na gordura ou massa magra em uma população adulta mista que consumiu iogurte adicionado de CLA. O mesmo ocorreu em um grupo formado apenas por homens que consumiram leite UAT, manteiga e queijo naturalmente enriquecidos com CLA (TRICON *et al.*, 2006).

Em relação ao efeito do CLA sobre a IA e a TMR, no caso dos estudos que usaram CLA em cápsulas, LAMBERT *et al.* (2007) e WHIGHAM *et al.* (2004), não encontraram alterações nestes parâmetros. Nos outros trabalhos encontrados na literatura, apenas a IA foi avaliada, sendo que na maioria deles não foi observada alteração neste parâmetro (PETRIDOU *et al.*, 2003; GAULLIER *et al.*, 2004, 2007; SMEDMAN *et al.*, 2005; TURPENEIN *et al.*, 2006; THOLSTRU *et al.*, 2008). Em contraste com estes resultados, LARSEN *et al.* (2006) e RAFF *et al.* (2009) verificaram uma redução significativa na IA nos voluntários que consumiram o CLA.

Entre os experimentos delineados para testar o efeito do CLA adicionado a um alimento, nenhum relatou mudança na IA (TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007), e NAZARE *et al.* (2007), encontraram um ligeiro aumento na TMR dos sujeitos do grupo teste.

O consumo do CLA parece ser seguro, visto que em apenas 2 trabalhos foi verificado um aumento da glicose em jejum em homens com sobrepeso (RISÉRIUS *et al.*, 2001; TRICON *et al.*, 2004). A ingestão do isômero trans<sup>10</sup>, cis<sup>12</sup> CLA deu origem a uma maior elevação na glicemia de jejum que o grupo que ingeriu a forma cis<sup>9</sup>, trans<sup>11</sup> CLA (TRICON *et al.*, 2004). Nestes estudos, o CLA foi fornecido na forma de cápsulas, sendo que este efeito não foi relatado em nenhum outro experimento (CLA em cápsulas ou adicionado a alimentos) encontrado na literatura.

Há controvérsias sobre o efeito do CLA sobre os lipídeos séricos e marcadores inflamatórios em humanos. Assim, nos estudos desenvolvidos com o CLA em cápsulas, TAYLOR *et al.* (2006) e GAULLIER *et al.* (2007) não verificaram qualquer mudança nos lipídeos séricos e na PCR, assim como BLANKSON *et al.* (2000), BERVEN *et al.* (2000) e PETRIDOU *et al.* (2003), que não verificaram qualquer modificação no colesterol total, suas frações e nos triglicerídeos. Estes últimos não avaliaram a PCR. Já, nos experimentos que usaram uma matriz alimentar para testar os efeitos do CLA sobre

estes parâmetros, não foi observada qualquer alteração significativa (TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007).

Apesar de experimentos com camundongos terem revelado um aumento da deposição de gordura no fígado no grupo que consumiu o CLA (TSUBOYAMA-KASAOKA *et al.*, 2000; CLEMENT *et al.*, 2002), os estudos com humanos parecem indicar que o consumo de CLA é seguro, visto que foram relatados sintomas relacionados, principalmente, ao sistema digestório (BLANKSON *et al.*, 2000; THOM *et al.*, 2001; GAULLIER *et al.*, 2004), sendo que nestes casos, o efeito adverso foi constatado tanto no grupo CLA como no placebo.

### 1.2.2 Outros efeitos

O início das pesquisas envolvendo o CLA estava associado aos seus efeitos anticarcinogênicos em modelos animais e em culturas de células, principalmente em tecido mamário, sendo vinculado a vários estágios do desenvolvimento do câncer, incluindo a inicialização, a progressão e a metástase (RAINER & HEISS, 2004). Entretanto, estes estudos ainda são poucos, principalmente envolvendo humanos.

Em estudos *in vitro*, o CLA inibiu o crescimento de culturas de células de câncer de mama (TANMAHASAMUT *et al.*, 2004; ALBRIGHT *et al.*, 2005; MIGLIETA *et al.*, 2006), de cólon (KIM *et al.*, 2002; CHO *et al.*, 2003) e de próstata (PALOMBO *et al.*, 2002; OCHOA *et al.*, 2004). Nestes trabalhos, o CLA atuou na inibição de fatores de crescimento tumoral, como nos receptores de estrogênio e, ainda, provocou apoptose. Os dois principais isômeros do CLA atuam nestes processos, porém por vias diferentes.

Com animais, o efeito anticarcinogênico do CLA foi, igualmente, demonstrado. Ratos alimentados com uma dieta contendo 1% de CLA durante 30 semanas, tiveram uma redução da incidência de câncer de cólon, induzido por dimetilhidrazine (DMH) (PARK *et al.*, 2001). Os efeitos do isômero cis 9, trans 11 CLA parece ter sido mais evidente. Desta forma, camundongos que consumiram a dieta suplementada com este isômero obtiveram maior inibição do desenvolvimento do câncer de cólon, em relação ao grupo que consumiu a dieta contendo a mistura deste com o trans 10, cis 12 CLA em quantidades iguais (CHEN *et al.*, 2003).

IP *et al.* (1991) observaram que ratas ingerindo 10 mg de 7,12-dimetilbenzeno-antraceno (substância que induz carcinogênese) tiveram uma inibição de 32% no aparecimento do tumor mamário quando ingeriram 0,5% de CLA na dieta e uma inibição de 60% numa dosagem de 1,5% de CLA. As dietas foram iniciadas duas semanas antes

da administração do carcinogênico e continuaram até o final do experimento. Neste estudo foi utilizada uma mistura dos isômeros do CLA, entretanto, os autores verificaram que grande parte do cis-9, trans-11 foi incorporado na fração fosfolipídica da membrana, sugerindo que este seria o isômero responsável pela inibição da carcinogênese.

Foi demonstrado em um estudo que um suprimento ininterrupto de CLA seria necessário para manter a inibição da progressão do tumor. Assim, IP *et al.* (1997) verificaram que somente os animais que receberam doses de CLA durante todo o experimento (20 semanas) tiveram uma redução de 70% no número total de tumores. Quando o CLA foi removido da dieta, os lipídeos neutros e os fosfolipídios, que haviam incorporado CLA, voltaram ao seu valor basal.

BANNI *et al.* (1999) mostraram que existe uma maior concentração de CLA nos tecidos que contém lipídeos neutros (glândula mamária e gordura abdominal) que nos tecidos que contém fosfolipídios (fígado). Isto pode explicar porque o CLA proporciona maior proteção da glândula mamária do que em outros tecidos.

Os estudos para avaliar os efeitos protetores do CLA contra o câncer em humanos são escassos e inconclusivos. Além disso, são baseados nos hábitos alimentares da população estudada e não na suplementação da substância. As conclusões são dirigidas aos benefícios anticarcinogênicos do consumo de alimentos lácteos, principalmente leite, iogurte e queijos (ARO *et al.*, 2000; VOORRIPS *et al.*, 2002; CHAGES *et al.*, 2003).

Há evidências que o CLA, ainda, reduz a formação da placa aterosclerótica em modelos animais. O CLA foi adicionado a uma dieta rica em colesterol e administrada a coelhos por 12 semanas. Os triglicerídeos séricos e a lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-col) reduziram significativamente no grupo suplementado com CLA, em comparação ao grupo placebo. As aortas dos coelhos alimentados com a dieta contendo CLA apresentaram menor formação de placas ateroscleróticas (LEE *et al.*, 1994). Um estudo delineado para induzir a hipercolesterolemia em *hamsters* foi usado para testar o CLA. O grupo que consumiu a dieta suplementada com CLA (1%) teve o colesterol total plasmático reduzido (WILSON *et al.*, 2000). O CLA seria responsável pela proteção contra a oxidação da LDL-col. Em contraste com os resultados encontrados com coelhos e *hamsters*, o CLA induziu a formação de placas ateroscleróticas em camundongos (C57B1/6) alimentados com dieta aterogênica (MUNDAY *et al.*, 1999).

Estudos demonstraram que o CLA pode modular o sistema imune, principalmente no estímulo que exerce na síntese de IgA, IgG, IgM e a diminuição significativa dos níveis de IgE, sugerindo que o CLA poderia ser benéfico no tratamento a alergias







alimentares (SUGANO *et al.*, 1998). O CLA funcionou como um agente protetor contra a *Escherichia coli* em camundongos e em galinhas (CHRISTIE, 1997). Em outro experimento, o CLA reduziu a produção de prostaglandina-E2 em porcos após a indução por histaminas (WHIGHAM *et al.*, 2001). Entretanto, em um modelo de doença auto-imune (lupus eritematoso) o CLA acelerou a proteinúria, um dos sintomas da doença devido à nefropatia (YANG *et al.*, 2000). Em um trabalho envolvendo humanos com dieta suplementada com CLA (3,9 g/dia), não houve alteração em nenhum dos parâmetros envolvendo o sistema imune (KELLEY, *et al.*, 2001). São necessários mais estudos sobre os efeitos do CLA na modulação do sistema imune, especialmente nas doenças auto-imunes e nas imunodeficiências, usando isômeros purificados, variando as doses e a duração do tratamento (WAHLE *et al.*, 2004).

O CLA está, igualmente, associado à modulação do diabetes. Em ratos obesos, (modelo *Zucker*) o CLA aumentou a sensibilidade à insulina (HENRIKSEN *et al.*, 2003). Entretanto, quando a dieta de camundongos foi suplementada com CLA, estes animais tiveram um aumento da resistência à insulina, ou seja, um efeito contrário ao observado no primeiro trabalho (TSUBOYAMA-KASAOKA *et al.*, 2003). Em humanos, esta contradição sobre efeito do CLA no metabolismo da glicose é, igualmente, observada. Em um grupo de homens e mulheres suplementados com uma mistura dos isômeros do CLA, foi observado um aumento da captação da glicose sanguínea (BELURY *et al.*, 2003), em contraste, homens obesos com síndrome metabólica que consumiram a dieta contendo uma mistura dos isômeros do CLA apresentaram um aumento da resistência à insulina (RISERIUS *et al.*, 2002).

### **1.3 Comercialização do CLA**

Os efeitos do CLA sobre a composição corporal são de grande interesse a profissionais da saúde, atletas e fábricas de suplementos alimentares (RAINER *et al.*, 2004). O CLA pode ser encontrado em sites da internet, com a principal função de emagrecimento. No Brasil, a comercialização do CLA foi suspensa desde abril de 2007 com a alegação de que são necessários mais estudos para a segurança do seu consumo (ANVISA, 2007). Os dados da Tabela 2 referem-se aos produtos comercializados no Brasil antes desta data.

**Tabela 2** – Dados sobre algumas marcas comerciais do CLA.

Produto	Marca	Descrição	CLA por Capsula	Quant. por Frasco	Preço
 CLA	Ultimate Nutrition	Mistura dos isômeros 75% a 80% CLA	1000 mg	90	R\$ 97,90
 CLA	EAS	Mistura dos isômeros	750 mg	90	R\$ 99,60
 CLA	Bodybuilders	Mistura dos isômeros	500 mg	90	R\$ 47,50
 Essential CLA	Iron-Tek	Mistura dos isômeros	1000 mg	90	R\$ 109,00
 CLA Pro	Dymatize	Mistura dos isômeros	1000 mg	90	R\$ 109,00
 CLA Fuel	Twinlab	Mistura dos isômeros 72% a 82% CLA	770 mg	60	R\$ 77,00

Fonte: <http://www.vitabrasilnet.com.br/emagrecimento.htm>. Acesso em Fevereiro de 2005.

Ressalta-se, ainda, que apesar do desenvolvimento de produtos alimentícios enriquecidos com CLA já ter sido iniciado em alguns países, como Espanha, Canadá e Estados Unidos (SALAS-SALVADÓ et al., 2006), não existem produtos alimentícios contendo CLA no mercado brasileiro.

## 2 OBESIDADE

A obesidade é uma doença crônica caracterizada por excesso de gordura corporal (WAITZBERG, 2000). A prevalência da obesidade varia de menos de 5% na China, Japão e alguns países da África a mais de 75% em zonas urbanas de Samoa. No Brasil, em um universo de 95,5 milhões de pessoas de 20 anos ou mais de idade há 3,8 milhões (4,0%) com déficit de peso e 38,8 milhões (40,6%) com excesso de peso, das quais 10,5 milhões são consideradas obesas (IBGE, 2004). Este fato confirma a



progressão da transição nutricional no país, caracterizada pela redução na prevalência dos déficits nutricionais e ocorrência mais expressiva de sobrepeso e obesidade (BRASIL, 1999).

O excesso de peso e a obesidade produzem efeitos metabólicos adversos sobre a pressão arterial, os níveis de colesterol e de triglicerídeos no sangue, além de levar à resistência à insulina. Os distúrbios de saúde, geralmente, não são fatais, mas debilitantes e associados a problemas respiratórios, musculares e esqueléticos crônicos, além de doenças na pele e infertilidade. Os casos mais graves, que ameaçam a vida, estão distribuídos em quatro grandes categorias: doenças cardiovasculares, agravos associados à resistência à insulina, certos tipos de câncer (especialmente hormônio-dependente e do intestino grosso) e doenças da vesícula biliar (WAITZBERG, 2000; OPAS, 2003).

A etiologia da obesidade é complexa e apresenta caráter multifatorial (OMS, 2000; ABESO, 2001; BRASIL, 2006), envolvendo fatores históricos, ecológicos, políticos, socioeconômicos, psicossociais, biológicos e culturais (BRASIL, 2006). Dentre os fatores biológicos, o tecido adiposo vem tomando um maior espaço nas pesquisas. Já se sabe que no processo fisiopatológico da obesidade, este tecido está infiltrado por macrófagos ativados, os quais também liberam quantidade excessiva de citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator- $\alpha$  de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), o inibidor 1 de ativador de plasminogênio (PAI-1), interleucina-6 (IL-6), proteína 4 ligadora de retinol, proteína 1 quimioatrativa de macrófagos (MCP-1) e proteínas de fase aguda (TILG & MOSCHEN, 2006). Esses fatores perpetuam a inflamação local e induzem a resistência à insulina e a disfunção vascular e cardíaca. Além disso, foi demonstrado que fatores secretados por macrófagos prejudicam a diferenciação de células adiposas em humanos (PERMANA *et al.*, 2006).

A visão tradicional do tecido adiposo como um depósito de lipídeos já é ultrapassada. Em 1994, a identificação da leptina estabeleceu definitivamente esse tecido como um órgão endócrino. Desde então, mais de uma centena de peptídeos bioativos foi descrita como produto liberado pelo tecido adiposo (LAFONTAN, 2005). Entre as diversas substâncias secretadas pelo tecido adiposo, destacam-se a leptina, a adiponectina, a adiposina, a resistina, o TNF- $\alpha$ , o PAI-1, as interleucinas 1 $\beta$ , 6 e 8 (IL-1 $\beta$ , 6 e 8), o fator 1 de crescimento insulina-símile (IGF-1), a MCP-1 e a visfatina, entre outros (QUEIRÓZ *et al.*, 2009). A produção e a secreção desses diversos fatores se intensificam com a obesidade (TSUJI *et al.*, 2001), sendo muitos deles, como o TNF- $\alpha$ ,

a resistina, o PAI-1, a IL-6 e a MCP-1, diretamente associados à indução de resistência à insulina, à hipercoagulabilidade e à aterogênese (QUEIRÓZ *et al.*, 2009).

A leptina é um hormônio secretado pelo tecido adiposo, em resposta ao armazenamento de gordura ou ao excesso de ingestão alimentar, e inibe a formação de neuropeptídeos relacionados ao apetite, como o neuropeptídeo Y (NPY). Ela, ainda, aumenta a expressão de neuropeptídeos anorexígenos (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006). A colecistocinina (CCK), a ghrelina, e o peptídeo YY são substâncias, igualmente, envolvidas no controle da ingestão alimentar. A CCK e o peptídeo YY são liberados pelo trato gastrointestinal e atuam no cérebro, inibindo a ingestão alimentar, pela promoção da saciedade após uma refeição. Ao contrário, o NPY estimula a ingestão de alimentos. A redução nos níveis de insulina e leptina ativa os neurônios produtores de NPY no hipotálamo (DUARTE *et al.*, 2005).

Dois tipos de tecido adiposo, com propriedades funcionais distintas, são classicamente descritos em mamíferos: tecido adiposo branco (TAB) e tecido adiposo marrom (TAM). Os dois estão envolvidos no balanço energético, entretanto, o TAM dissipa a energia na forma de calor durante a termogênese induzida pelo frio e pela dieta, já o TAB está envolvido na estocagem de energia na forma de triacilglicerídeos. Este último contém adipócitos, pré-adipócitos (células precursoras de adipócitos), células endoteliais, células do estroma vascular, fibroblastos, leucócitos e macrófagos (JÉQUIER, 2002).

O desenvolvimento da obesidade resulta não só da hipertrofia, mas da hiperplasia das células de gordura. Entre 15% e 50% das células que constituem o tecido adiposo correspondem a um reservatório de células-tronco mesenquimais, que incluem pré-adipócitos e são capazes de se dividir e se diferenciar em resposta a vários agentes extracelulares (COLEMAN & LEE, 2004). Adipócitos adultos exibem renovação intensa e constante, com potencial de gerar novas células durante toda a vida do indivíduo (SPALDING *et al.*, 2008).

Na obesidade, o predomínio de células hipertrofiadas reduz o fluxo sanguíneo, levando à hipóxia neste tecido, à inflamação e à infiltração de macrófagos. Além disto, os adipócitos hipertrofiados produzem citocinas pró-inflamatórias (TNF $\alpha$ , IL6, IL1 $\beta$ , resistina, MCP1) e, ao mesmo tempo, apresentam limitação na capacidade de sintetizar e liberar a adiponectina, que possui ação antiinflamatória (GOOSSENS, 2008).

## 2.1 Obesidade e CLA

O tratamento da obesidade consiste na adoção de dieta que reduza a ingestão calórica, no aumento da atividade física e em modificações comportamentais. Em alguns casos, o uso de medicamentos antiobesidade pode ser necessário (WAITZBERG, 2000).

Existem evidências de que os ácidos graxos estão envolvidos na regulação da adipogênese, podendo modular a fome, o gasto energético e a composição corporal (St-ONGE *et al.*, 2003). Estudos epidemiológicos demonstram que as dietas ricas em ácidos graxos saturados aumentam a resistência à insulina e a incidência de doenças cardiovasculares e que, ao contrário, aquelas ricas em ácidos graxos mono- e poli-insaturados protegem o desenvolvimento dessas doenças (WOHLERS *et al.*, 2003).

Da mesma maneira, trabalhos científicos têm revelado a existência de efeitos saudáveis do CLA, relacionados à redução da gordura corporal em animais e em humanos. Camundongos, que tiveram a dieta suplementada com CLA, tiveram uma redução de 82% na gordura corporal, em comparação ao grupo controle (COOK *et al.*, 2000). Em humanos, o CLA foi, igualmente, eficiente para modular os componentes da composição corporal, em grupos formados por homens (RISÉRIUS *et al.*, 2001), por mulheres (RAFF *et al.*, 2009) ou por ambos (BLANKSON *et al.*, 2000; GAULLIER *et al.*, 2004; LASO *et al.*, 2007). É importante ressaltar que, o CLA foi utilizado na forma de cápsulas (BLANKSON *et al.*, 2000; GAULLIER *et al.*, 2004; RAFF *et al.*, 2009), ou adicionado a uma matriz alimentar (LASO *et al.*, 2007), neste caso, o leite.

## 3 BEBIDAS LÁCTEAS E EMULSÕES

### 3.1 Características gerais e desenvolvimento

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas, este é o produto resultante da mistura do leite e soro de leite adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias, gordura vegetal, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos, sendo que a sua base láctea deve representar pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto. A legislação vigente exige, ainda, que bebidas lácteas possuam um teor mínimo de 1g de proteínas de origem láctea por cada 100g de produto final (BRASIL, 1999).

Atualmente, o conhecimento do consumidor e do mercado, através da identificação das tendências e demandas, corresponde a um dos grandes focos das empresas. O desenvolvimento de produtos deve ser orientado pelo mercado e responder rapidamente às suas necessidades (BRANDÃO, 2002).

Para o desenvolvimento de um novo produto alimentício é necessário uma equipe multidisciplinar e uma estreita relação entre a administração da empresa e os setores de pesquisa e desenvolvimento, *marketing*, produção, compras, controle de qualidade e vendas, além de consumidores e fornecedores (WILLIE *et al.*, 2004).

Após a definição do produto, ocorre a elaboração dos protótipos e os testes industriais, para determinar os parâmetros de processo, da formulação e das especificações finais (KOTLER, 2000). A composição química e o estudo da vida de prateleira são importantes para caracterizar o produto final (WILLE, 1999).

Finalmente, os protótipos são levados a uma pesquisa de mercado para validar o conceito do produto e avaliação da preferência dos consumidores (KOTLER, 2000). A avaliação sensorial, na indústria de alimentos, é uma importante ferramenta para a decisão do processo de produção, visando minimizar o risco associado com a introdução de novos produtos no mercado (MEIRA & ROTONDARO, 2006).

O consumo de bebidas lácteas aumentou nos últimos anos (ABIQ, 2004), e a indústria de laticínios, vislumbrando este mercado, vem agregando valor aos produtos, principalmente com a formulação de alimentos com propriedades funcionais (ANTUNES *et al.*, 2007).

### **3.2 Estabilidade de emulsões**

As bebidas lácteas são um tipo de emulsão óleo em água (O/A), um sistema heterogêneo, constituído por pelo menos um líquido imiscível, intimamente disperso num outro líquido sob a forma de gotículas, cujo diâmetro, em geral, excede 0,1 mm. Estes sistemas são instáveis, podendo ter sua estabilidade aumentada por certas substâncias, como agentes emulsificantes ou tensoativos (McCLEMENTS, 1999; FRØST & JANHØJ, 2007).

O *mix* de ingredientes para a bebida láctea contém estabilizantes e espessantes, substâncias que possuem grupos hidrofílicos e lipofílicos na mesma molécula. As moléculas não-polares tendem a se localizar na fase oleosa da emulsão, as polares, na fase aquosa, e as que possuem características polares e apolares, na interface. A sua principal função é promover a formação e a estabilidade da emulsão (ARAÚJO, 2004). O

CLA é um óleo e, por isto, requer tecnologia adequada para a sua incorporação a uma bebida láctea, evitando, assim, a desestabilização da emulsão.

Na pasteurização, uma etapa indispensável no processamento da bebida láctea, que tem como objetivo principal eliminar os microorganismos patógenos, ocorre uma melhora na estabilidade do produto, pois este procedimento leva à desnaturação das proteínas do soro e sua complexação com a caseína, tornando a mistura mais lisa e reduzindo a possibilidade de dessoramento (DIAS, 2008).

A estabilidade de emulsões é analisada pela observação da separação das fases, pelo tamanho e a pela distribuição das gotículas de gordura na fase dispersa (McCLEMENTS, 1999). Não foram encontradas na literatura métodos para a avaliação da estabilidade de bebidas lácteas. Entretanto, para o estudo da estabilidade de soluções lipídicas parenterais, que também são uma emulsão O/A, as seguintes metodologias têm sido utilizadas: inspeção visual e a determinação do tamanho e da distribuição das gotículas lipídicas por microscopia ótica e pelo espalhamento de luz dinâmico (DLS) (DRISCOLL *et al.*, 2000, 2005; SFORZINI, 2001; ANTUNES, 2004; USP PHARM FORUM, 2004).

### **3.3 Inspeção visual**

A inspeção visual se baseia na análise da desestabilização macroscópica das emulsões lipídicas, pela observação de qualquer alteração da coloração e das etapas visíveis de separação de fases, a formação de creme, a coalescência e a separação efetiva (RAWLE, 2002; ANTUNES, 2004; ROMAN & SGABIERI 2005).

### **3.4 Determinação do tamanho das gotículas em emulsões lipídicas**

O espalhamento de luz dinâmico (DLS – “dynamic light scattering”), também conhecido como espectroscopia de correlação de fóton (PCS – “photon correlation spectroscopy”) é uma técnica baseada na análise rápida de flutuações temporais da intensidade de um feixe de luz espalhado pelo movimento browniano de qualquer partícula, incluindo gotículas lipídicas, suspensas em um líquido. A intensidade é medida num dado ângulo (geralmente 90°) através de um detector adequado (fotomultiplicador), que mede as flutuações rápidas de luz espalhada (SFORZINI *et al.*, 2001; RAWLE, 2002).

Já, a microscopia ótica (MO) é uma forma direta e simples de se analisar as gotículas lipídicas de uma emulsão. Embora seja um método comum, a MO permite a medição do tamanho dos glóbulos de gordura e a sua quantificação. Ainda, proporciona a visualização direta do aspecto real da emulsão, através de uma filmadora que permite o registro na forma de fotografia (ANTUNES, 2004)

### 3.5 Análise sensorial

A análise sensorial é uma disciplina científica essencial usada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos alimentos e a forma como são percebidas pelos sentidos humanos, tais como da visão, olfato, gosto, tato e audição (FERREIRA *et al.*, 2000).

Os testes sensoriais podem ser divididos em métodos descritivos ou analíticos, discriminativos ou de diferença e afetivos (STONE & SIDEL, 1993; FERREIRA *et al.*, 2000). Os discriminativos avaliam a intensidade dos atributos sensoriais dos produtos (aspectos quantitativos) e descrevem o produto avaliado (aspecto qualitativo), citam-se o teste triangular, comparação pareada, teste duo-trio, teste de similaridade, testes de diferença para múltiplas amostra (teste de ordenação e teste de diferença do controle), e por fim a análise sequencial de Wald. Os testes descritivos determinam se existe diferença perceptível entre as amostras, sendo os mais conhecidos o perfil de sabor, a análise descritiva quantitativa (ADQ) e o perfil de textura. Por outro lado, os testes afetivos avaliam a preferência ou a aceitação de um produto junto ao mercado, tais como os testes de preferência (teste de comparação pareada e teste de ordenação-preferência) e os testes de aceitação (teste de escala hedônica, escala de atitude e escala do ideal) (FERREIRA *et al.*; 2000; REIS & MINIM, 2006).

Os testes afetivos de análise sensorial apresentam uma série de aplicações dentre as quais é relevante destacar: a manutenção da qualidade do produto por uma avaliação das variações da aceitabilidade em função de alterações na formulação, a substituição de matéria-prima, modificações na embalagem ou no processo e, ainda, análises de aceitação no desenvolvimento de novos produtos (PROFIQUA, 2002).

Não foram encontrados na literatura estudos que usaram a análise sensorial para avaliar bebidas lácteas não fermentadas adicionadas de CLA ou de outros óleos. Entretanto, alguns autores usaram o teste triangular para avaliar a vida de prateleira de leite de vaca e seus derivados que tiveram o teor de CLA aumentado pela modificação da dieta dos animais (JONES *et al.*, 2005; LYNCH *et al.*, 2005). Nestes trabalhos, o teste

triangular foi eficiente para identificar o sabor de ranço em leite e manteiga. Em um outro experimento, RAMASWAMY *et al.* (2001), verificaram uma boa aceitação, avaliada por teste afetivo, de leite de vaca produzido da mesma maneira que nos trabalhos citados acima.

## **4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL**

O estado nutricional expressa o grau pelo qual as necessidades fisiológicas de nutrientes do indivíduo são atendidas. A sua avaliação deve ser feita rotineiramente em todos os indivíduos, para que o planejamento dietético e a orientação nutricional se tornem mais eficazes. Uma abordagem completa inclui dados sobre a ingestão dietética, avaliação antropométrica, exames bioquímicos, história clínica e dados psicossociais (MAHAN & ESCOTT-STAMP, 2005).

### **4.1 Avaliação da composição corporal**

Em estudos epidemiológicos, a avaliação clínica do excesso de peso e da obesidade tem sido comumente realizada pela determinação da composição corporal, associada à quantificação dos principais componentes estruturais do corpo humano, dividindo-o em tecidos específicos que compõem a massa corporal total (RECH *et al.*, 2006). Os três maiores componentes teciduais do corpo são os ossos, músculos e gordura, e as diferenças nas quantidades destes tecidos são responsáveis por amplas variações na massa corporal entre os indivíduos, considerando-se as particularidades entre os gêneros e as faixas etárias (HEYMSFIELD *et al.*, 2005).

A composição corporal de adultos é obtida pelas medidas da estatura, peso, espessura das pregas cutâneas, circunferência abdominal e da cintura, área muscular do braço, índice de massa corporal (IMC), massa gorda, massa magra e massa óssea (GOMES *et al.*, 2005). Todos os métodos disponíveis para avaliar a composição corporal baseiam-se em certas suposições e, portanto, representam estimativas do percentual real de cada componente (McARDLE *et al.*, 2003), sendo que a sua escolha depende da população atendida, da disponibilidade de recursos, da intenção do estudo, dentre outros fatores (RODRIGUES *et al.*, 2001).

O IMC é o método mais utilizado para classificação do sobrepeso e obesidade em populações adultas (OMS, 1995), e representa um indicador da densidade do corpo, que se correlaciona com a gordura corporal (GC). Além disso, tem sido amplamente utilizado por ser prático, rápido, além de requerer equipamentos de menor custo (GOMES *et al.*, 2005). Entretanto, com este índice não é possível mensurar a massa de gordura, e, por isto, o seu uso com o propósito de diagnosticar a GC é questionado (FRANKENFIELD *et al.*, 2001; RICARDO & ARAÚJO, 2002).

As dobras cutâneas (DC) apresentam grande aceitabilidade para identificação do excesso de GC, e permitem estimar a gordura subcutânea em determinados locais do corpo, de forma rápida, prática e com baixo custo, necessitando-se apenas de um aparelho para medição, o plicômetro (BARBOSA *et al.*, 2001). Além disto, os valores de GC estimados por esta técnica se associam muito bem com a pesagem hidrostática, em indivíduos que não apresentam obesidade (SALEM *et al.*, 2004).

A bioimpedância (BIA) é uma técnica rápida com relativa simplicidade (BARBOSA *et al.*, 2001), e baseia-se no fato de que os tecidos com elevado conteúdo de água e de eletrólitos possuem elevada capacidade de condução elétrica, ao passo de que os tecidos com baixas concentrações de água resultam em uma alta resistência à passagem de corrente (McARDLE *et al.*, 2003). Os resultados são muito interessantes quando são aplicados a adultos, porém eles devem apresentar hidratação normal (PICCOLI *et al.*, 2002). REZENDE *et al.* (2007) relatam a dificuldade de se estabelecer alguma conclusão sobre a validade da BIA em brasileiros, devido às diferenças entre os grupos avaliados e ao fato de diferentes equações terem sido utilizadas, além da escassez de estudos desta natureza no País.

A absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA) é uma técnica amplamente utilizada para a mensuração de massa e densidade mineral (DEFAVORI & SARRIÉS, 2007). Esta técnica permite uma avaliação rápida e com dados confiáveis, possuindo elevado nível de confiabilidade, precisão e reprodutibilidade, mas é considerada uma técnica de alto custo (LOBO *et al.*, 2004; RECH *et al.*, 2006). A medida obtida por DEXA tem sido aceita em estudos de validação, e no desenvolvimento de novas técnicas antropométricas de avaliação da composição corporal (RECH *et al.*, 2006).

Alguns autores utilizaram esta técnica e a medida do IMC para avaliar a composição corporal de adultos que consumiram dietas enriquecidas com CLA (BLANKSON *et al.*, 2000; GAULLIER *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006; GAULLIER *et al.*, 2007; LAMBERT *et al.*, 2007; RAFF *et al.*, 2009). Outros pesquisadores usaram as medidas das dobras cutâneas (PETRIDOU *et al.*, 2003), a bioimpedância elétrica



(BERVEN *et al.*, 2000), FUTREX<sup>®</sup> (THOM *et al.*, 2001), BOD POD<sup>®</sup> (WHIGHAM *et al.*, 2004), além da combinação de DC, BIA, circunferência abdominal e IMC (TRICON *et al.*, 2004; TAYLOR *et al.*, 2006). RISÉRIUS *et al.* (2001) utilizaram medidas da circunferência do abdômen e cintura para determinar o efeito do CLA na gordura abdominal em homens de meia idade.

## 4.2 Avaliação dietética

O registro e a avaliação acurada da ingestão dietética de um indivíduo é o mais difícil aspecto da abordagem nutricional. A informação obtida pode ser muito útil, entretanto é importante reconhecer as limitações dos dados (MAHAN & ESCOTT-STAMP, 2005). Dessa forma, os instrumentos dietéticos, particularmente o questionário de frequência de consumo alimentar (QFCA) e o recordatório 24h (R24h), estão sujeitos a erros inerentes ao indivíduo e ao planejamento, aplicação e análise dos dados. Por essa razão, recomenda-se ao pesquisador o adequado entendimento da natureza dos erros inerentes aos inquéritos dietéticos, assim como dos possíveis impactos dos mesmos sobre a estimativa de consumo alimentar (SLATER *et al.*, 2004).

De acordo com GARCIA (2004), os métodos R24h e a história dietética dependem, respectivamente, do relato do que foi consumido ou do que é habitualmente ingerido. Portanto, a memória e a percepção são condições necessárias para garantir a qualidade da informação, podendo produzir distorções consideráveis. Para aumentar a confiabilidade dos dados é recomendado utilizar utensílios (colheres, xícaras, copos) ou a foto deles durante a entrevista (RIBEIRO & SOARES, 2002).

Os inquéritos dietéticos podem fornecer informações tanto quantitativas como qualitativas a respeito da ingestão de alimentos de um indivíduo ou população. O método do registro alimentar proporciona a identificação dos tipos de alimentos e preparações consumidos e o horário das refeições, além de uma melhor precisão quantitativa do consumo alimentar em relação aos demais métodos. As grandes vantagens dos métodos de inquéritos alimentares são o baixo custo e a praticidade de utilização na rotina clínica (KIMIMURA *et al.*, 2005).

Com o intuito de avaliar a ingestão dietética e protéica de indivíduos adultos de classe média, ANSELMO *et al.* (1992) utilizaram o método recordatório de 24 h, repetido três vezes por semana. Os dados obtidos em medidas caseiras foram convertidos para peso e volume, e calculado o valor energético e de proteínas por dia.

GAULLIER *et al.* (2004) usaram um registro dietético de 14 dias para avaliar a ingestão dietética de adultos com sobrepeso, que tiveram a dieta suplementada com CLA durante um ano. O registro foi feito no início do experimento, aos seis meses e ao final do tratamento. Entretanto, outros trabalhos que avaliaram o efeito do CLA na composição corporal de humanos, não analisaram o valor calórico ingerido pelos voluntários (BLANKSON *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001).

### 4.3 Exames bioquímicos

Cada variação do consumo dietético, de caráter quantitativo e, sobretudo de caráter qualitativo, comporta acúmulo ou depleção dos compartimentos teciduais e celulares, nos seus metabólitos críticos para a manutenção da homeostase corpórea (WAITZBERG *et al.*, 2000).

Os exames bioquímicos são considerados um importante parâmetro da avaliação nutricional, podendo confirmar diagnóstico de carência de nutrientes, como na anemia ou de excessos alimentares, como nas dislipidemias (MAHAN & ESCOTT-STAMP, 2005), com a vantagem de possibilitar seguimento ao longo do tempo e de intervenções nutricionais (WAITZBERG *et al.*, 2000).

Alguns parâmetros bioquímicos, utilizados em estudos com CLA, não foram eficientes para revelar a ação desse composto. Assim, WEST *et al.* (2000) avaliaram a insulina, o hormônio do crescimento e a glicose sanguínea de camundongos alimentados com dietas suplementadas com 1% de CLA por cinco semanas. Não houve diferença estatística entre os grupos suplementado e controle.

Em apenas dois trabalhos, foi relatado algum efeito negativo na glicose ou na insulina sanguínea. Nestes, homens com sobrepeso ou obesidade consumiram o CLA na forma de cápsulas (RISÉRIUS *et al.*, 2001; TRICON *et al.*, 2004).

Por outro lado, parâmetros associados aos lipídios séricos mostraram-se mais sensíveis. Assim, BLANKSON *et al.* (2000) avaliaram o efeito de diferentes doses de CLA (0 g; 1,7 g; 3,4 g; 5,1 g e 6,8 g) durante 12 semanas. Houve redução do colesterol total, da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e da lipoproteína de alta densidade (HDL). Em outro estudo, com duração de oito semanas, ocorreu redução do colesterol total, da HDL e dos triglicerídeos durante as primeiras quatro semanas do experimento. O grupo recebeu 0,7 g de CLA nas primeiras 4 semanas e 1,4 g de CLA nas outras 4 semanas (MOUGIOS *et al.*, 2001).

## 5 MÉTODOS PARA ESTIMAR O GASTO ENERGÉTICO

Todos os organismos vivos gastam energia para manter a homeostase celular. O consumo diário de energia em humanos pode ser dividido em três partes: a energia consumida em repouso, que responde a 60-75% do gasto energético total (GET), o efeito térmico dos alimentos (10%) e a atividade física (15-30%) (WANG *et al.*, 2000).

A taxa metabólica basal (TMB) consiste na quantidade de energia necessária para o corpo humano manter os processos fisiológicos normais, incluindo as funções cardiovasculares e respiratórias em repouso, funções gastrointestinais e renais, a energia consumida pelo sistema nervoso central, a homeostase celular e demais reações bioquímicas envolvidas na manutenção do metabolismo de repouso (McARDLE *et al.*, 2003). Esta taxa sofre influência da massa livre de gordura, idade, gênero, fatores genéticos, atividade do sistema nervoso, hormônios tireoidianos entre outros (MAHAN & ESCOTT-STAMP, 2005).

Várias equações de predição da TMB foram desenvolvidas, utilizando variáveis de mensuração fácil e precisa, tais como idade, altura e massa corporal total. Entre as equações, destacam-se a de Harris e Benedict e a da FAO/OMS (MAHAN & ESCOTT-STAMP, 2005). No entanto, por sofrer influência de vários aspectos individuais, estas equações possuem uma abrangência de, no máximo, 75% da população (NIEMAN, 2003). Além disto, estudos têm demonstrado que as equações fornecem estimativas elevadas da TMB em brasileiros, possivelmente devido ao fato de terem sido derivadas, em sua maioria, de amostras das populações norte-americana e européia, que apresentam características diferentes de composição corporal e vivem em condições ambientais distintas das encontradas no Brasil (WAHRLICH & ANJOS, 2001).

A TMB pode ser medida por métodos de calorimetria direta e indireta, baseados no princípio de liberação de calor produzido pelo trabalho metabólico. Na calorimetria direta, é medida a liberação de calor real do organismo através de um calorímetro. No exame de calorimetria indireta, obtém-se a taxa de metabolismo de repouso (TMR), calculada pela quantidade de oxigênio consumido, que representa um valor muito próximo da TMB, podendo ser aplicada no referido cômputo do GET (McARDLE *et al.*, 2003).

## 5.1 Calorimetria direta

A calorimetria direta requer a monitorização da quantidade de calor produzida por um indivíduo dentro de uma estrutura de tamanho suficiente para permitir quantidades moderadas de atividade. Este método fornece uma medida da energia gasta na forma de calor, mas não informa sobre o tipo de combustível que está sofrendo oxidação. Seu uso também é limitado por ser muito caro e não se encontrar facilmente disponível (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005). Não foram encontrados na literatura trabalhos que usaram este método para avaliar o efeito do CLA sobre o organismo humano e de animais.

## 5.2 Calorimetria indireta

A calorimetria indireta é um método prático, baseado em pressupostos, que identifica a natureza e a quantidade dos substratos energéticos que estão sendo metabolizados pelo organismo. Este método mede a taxa metabólica pela determinação do consumo de oxigênio ( $O_2$ ) com um espirômetro, e a produção de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) do organismo por um determinado período de tempo. Admitindo-se que todo o  $O_2$  consumido é utilizado para oxidar os substratos energéticos, e que todo o  $CO_2$  produzido é eliminado pela respiração, é possível calcular a quantidade total de energia produzida, que significa a conversão da energia química armazenada nos nutrientes em energia química armazenada no trifosfato de adenosina (ATP) mais a energia dissipada como calor durante o processo de oxidação (McARDLE *et al.*, 2003). Os dados são obtidos de forma que permitam o cálculo do quociente respiratório (QR), cujo cálculo é feito dividindo-se os moles de  $CO_2$  expirado pelos moles de  $O_2$  consumido. Essa determinação é convertida em quilocalorias de calor produzido por metro quadrado de superfície corpórea por hora, e é extrapolado em gasto de energia em 24 h (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005; SILVA & WAITZBERG, 2000).

A medida das trocas respiratórias pode ser realizada utilizando-se dois métodos para coletar o ar expirado: o ar pode ser diretamente expirado através de uma máscara ou bocal, ou pode ser tirado de uma tenda ou toldo que cubra a cabeça do indivíduo. O consumo de oxigênio e a produção do gás carbônico são calculados a partir da taxa de ventilação, e das diferenças entre a concentração do gás inspirado e expirado (McARDLE *et al.*, 2003). O exame para medir a TMR é realizado pela manhã, após um jejum de 10 a 12 h, completamente relaxado, em posição supina, em ambiente

termicamente neutro e depois de repousar por 30 min. A leitura ocorre nos próximos 30 a 40 min, durante os quais o indivíduo deve permanecer na posição supina (NIEMAN, 2003).

Em animais, a medida do gasto energético por calorimetria indireta foi realizada em camundongos alimentados com dietas hiperlipídicas e suplementadas com 1% de CLA durante 5 semanas. O grupo suplementado com CLA teve um aumento de 7,7% no gasto energético (WEST *et al.*, 2000).

Já, nos estudos com humanos, NAZARE *et al.* (2007) encontraram um ligeiro aumento em homens e mulheres que consumiram CLA por 98 dias, resultado diferente do encontrado por LAMBERT *et al.* (2007) e WHIGHAM *et al.* (2004), que não encontraram alterações neste parâmetro, em grupo semelhante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Estas referências bibliográficas incluem as citadas na Introdução e na Revisão de Literatura.

ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica. *Documento do Consenso Latino-Americano em Obesidade*. São Paulo: ABESO; 2001.

ABIQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. Dados de Produção Brasil em toneladas de produtos Lácteos - 2004. ABIQ: São Paulo, 2004.

ADLOF, R. O. Separation of conjugated linoleic acid methyl esters by silver-ion high performance liquid chromatography in semi-preparative mode. *Journal of Chromatography*, v. 1033, p. 369-371, 2004.

ADLOF, R. O.; MENZEL, A.; DOROVSKA-TARAN. Analysis of conjugated linoleic acid-enriched triacylglycerol mixtures by isocratic silver-ion high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, v. 953, p. 293-297, 2002.

AKALIN, A.S.; TOKUŞOĞLU, Ö.; GÖNÇ, S.; AYCAN Ş. Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yoghurts supplemented with fructooligosaccharide. *International Dairy Journal*, v. 17, p.1089-1095, 2007.

ALBRIGHT, C.D.; KLEM, E.; SHAH, A.A.; GALLAGHER, P. Breast cancer celltargeted oxidative stress: enhancement of cancer cell uptake of conjugated linoleic acid, activation of p53, and inhibition of proliferation. *Exp Mol Pathol* v. 79, p. 118– 125, 2005.

ANSELMO, M. A. C.; BURINI, R. C.; ANGELELI, A. Y. O.; MOTA, N. G. S.; CAMPANA, A. O. Avaliação do estado nutricional de indivíduos adultos sadios de classe média. Ingestão energética e protéica, antropometria, exames bioquímicos do sangue e testes de imunocompetência. *Revista de Saúde Pública*, v. 26(1). São Paulo, 1992.

ANTUNES, M. S. Estudo à microscopia eletrônica da estabilidade física de emulsões lipídicas em soluções nutritivas parenterais. *Rev. Bras. Farm.*, v.85(3), p.: 121-127, 2004.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe Técnico n. 17 de Abril de 2007. Brasil, 2007.

ARAÚJO, Júlio M. A. *Química de Alimentos: Teoria e Prática*. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004. 478 p.

ARO, A.; MANNISTO, S.; SALMINEN, I.; OVASKAINEN, M.L.; KATAJA, V.; UUSITUPA. . Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr Cancer* v. 38, p. 151– 157, 2000.

ASPEN.: National Advisory Group on Standards and Practice Guidelines for Parenteral Nutrition. Safe Practices for Parenteral Nutrition Formulations. *JPEN* 22(2): 49-65, 1998.

BANNI, S.; CLEMENT I., ANGIONI, E.; CARTA G.; MCGINLEY J.; HENRY, J. T.; BARBANO, D.; BAUMAN, D. Conjugated Linoleic Acid–Enriched Butter Fat Alters Mammary Gland Morphogenesis and Reduces Cancer Risk in Rats. *Journal of Nutrition*, v.129, p.2135-2142, 1999.

BARBOSA, A.R.; SANTARÉM, J.M.; FILHO, W.J.; MEIRELLES, E.S.; MARUCCI, M.F.N. Comparação da gordura corporal de mulheres idosas. *Arc Lat Amer Nutr.*, v.51, n.1, p.49-56, 2001.

BAUMGARTNER, R.N. Electrical impedance and total body electrical conductivity. In: Roche, A.F.; Heymsfield, S.B.; Lohman, T.G. (Ed.) *Human body composition*. Champaign: Human Kinetics, 1996. p. 79-107.

BAUMGARTNER, R.N.; HEYMSFIELD, S.B.; ROCHE, A.F. Human body composition and the epidemiology of chronic disease. *Obesity Res.*, v.3, p.73-95, 1995.

BECH, A.C.; ENGELUND, E.; JUHL, H.J.; KRISTENSEN, K.; POULSEN, C.C. *Optimal design of food products*. Working paper. n°. 19. Aarhus: MAPP Centre, 1994.

BELURY, M.A. Dietary conjugated linoleic acid in health. *Annual Review Nutrition*, v. 22, p.505– 531, 2002.

BELURY, M.A.; MAHON, A.; BANNI, S. The conjugated linoleic acid (CLA) isomer, t10c12-CLA, is inversely associated with changes in body weight and serum leptin in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Nutrition*, v. 133, p. 257S-260S, 2003.

BERVEN, G.; BYE, A.; HALS, O.; BLANKSON, H.; FAGERTUM, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or obese human volunteers. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, v. 102, p. 455– 462, 2000.

BHATTACHARYA, A.; RAHMAN, M.M.; SUN, D. et al. The combination of dietary conjugated linoleic acid and treadmill exercise lowers gain in body fat mass and enhances lean body mass in high fat-fed male BALB/C mice. *J Nutr* v 135, p.1124– 1130, 2005.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *Journal of Nutrition*, v. 130, p.2943-2948, 2000.

BRANDÃO, S.C.C. Novas Gerações de Produtos Lácteos Funcionais. *Indústria de Laticínios*, p.64-66- JAN/FEV 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 57 de 08 de dezembro de 1999. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. DAS/SIPOA, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. *Obesidade*. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.

CHAJES, V.; LAVILLONNIERE, F.; FERRARI, P., et al. Conjugated linoleic acid content in breast adipose tissue is not associated with the relative risk of breast cancer in a

population of French patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* v 11, p. 672– 673, 2002.

CHAJES, V.; LAVILLONNIERE, F.; MAILLARD, V., et al. Conjugated linoleic acid content in breast adipose tissue of breast cancer patients and the risk of metastasis. *Nutr Cancer* v 45, p. 17– 23, 2003.

CHEN, B.Q.; XUE, Y.B.; LIU, J.R. et al. Inhibition of conjugated linoleic acid on mouse forestomach neoplasia induced by benzo (a) pyrene and chemopreventive mechanisms. *World J Gastroenterol* v. 9, p. 44–49, 2003.

CHO, H.J.; LEE, H.S.; CHUNG, C.K.; et al. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid reduces insulin-like growth factor-II secretion in HT-29 human colon cancer cells. *J Med Food* v. 6, p. 193– 199, 2003.

CHOI, N.; KWON, D.; YUN, S.H.; JUNG, M.Y.; SHIN, H.K. Selectively hydrogenated soybean oil with conjugated linoleic acid modifies body composition and plasma lipids in rats. *J Nutr Biochem* v. 15, p. 411– 417, 2004.

CHRISTIE, W. W.; DOBSON, G.; GUNSTONE, F. D. Isomers in commercial samples of conjugated linoleic acids. *Lipidis*, v. 32, p. 1231-1237, 1997.

COLEMAN, R.A.; LEE, D.P. Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation. *Prog Lipid Res.*, v. 43, n 2, p. 134-176, 2004.

COOK, M. E.; DRAKE, B. M.; PARIZA, M. W. Derivatives of conjugated linoleic acid (CLA) and fat reduction. *FASEB Journal*, v. 14, p. A525-A526, 2000.

CORINO, C.; LO FIEGO, D.P.; MACCHIONI, C.P.; PASTORELLI, G.; DI GIANCAMILLO, A.; DOMENEGHINI, C.; ROSSI, R. Influence of dietary conjugated linoleic acids and vitamin E on meat quality, and adipose tissue in rabbits. *Meat Science* v. 76, p. 19-28, 2007.

CORL, B. A.; BAUMGARD, L. H.; DWYER, D. A.; GRIINARI, J. M.; PHILIPS, B. S.; BAUMAN, D. E. The role of delta-9-desaturase in the production of cis-9, trans-11. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 12, p.622-630, 2001.

DALLAS, P. O uso de derivados de soro em aplicações de produtos de consumo. *Leite e Derivados*, Ano 8, n. 46, mai/jun, p. 48-50, 1999.

DEFAVORI, C.G.; SARRIÉS, G.A. A correlação de métodos DEXA e CDEXA em absorptiometria mineral óssea. *Radiol bras*, v.40, n.3, p.183-187, 2007.

DRISCOLL, D.F. Stability and compatibility assessment techniques for total parenteral nutrition admixtures: setting the bar according to pharmacopeial standards. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, v. 8, n. 3, p. 291-295, 2005.

DRISCOLL, D.F. Total Nutrient Admixtures: theory and Practice. *Nutr. In Clin.Pract*, v. 10, p. 114-119, 1995.

DRISCOLL, DF, BACON, MN, BISTRIAN, BR. Physicochemical stability of two types of intravenous lipid emulsion as total nutrient admixtures. *J Parent Enteral Nutr.* v. 24, n. 1, p. 15-22, 2000.



DUARTE, A.C.G.; FAILLACE, G.B.D.; WADI, M.T.; PINHEIRO, R.L. *Síndrome Metabólica – Semiologia, Bioquímica e Prescrição Nutricional*. São Paulo: Axcel Books do Brasil Editora Ltda; 2005.

EVANS, M.E.; BROWN, J.M.; McINTOSH, M.K. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J Nutr Biochem*, v.13, p.508-516, 2002.

FERREIRA, V. L. P. *Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos*. Campinas, SP: SBCTA, 2000. 127p.

FONSECA-ALANIZ, M.H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M.I.C.; LIMA, B.F. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 50, n. 2, p. 216-228, 2006.

FRANKENFIELD, D.S.; ROWE, W.A.; COONEY, R.N.; SMITH, J.S.; BECKER, D. Limits of body mass index to detect obesity and predict body composition. *Nutrition*, v. 17, n. 1, p. 26-30, 2001.

FRØST, M.B.; JANHØJ, T. Understanding creaminess. *International Dairy Journal*, v. 17, p. 1298–1311, 2007.

FUENTE, M.A.; LUNA, P.; JUÁREZ, M. Chromatographic techniques to determine conjugated linoleic acid isomers. *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 25, n. 9, 2006

GARCIA, R. W. D. Representations on food intake and its implications in nutritional investigations: qualitative study with subjects submitted to dietary prescriptions. *Revista de Nutrição*, Jan./Mar, v.17, no.1, p.15-28, 2004.

GAULLIER, J. M.; HALSE, J.; HØYE, K.; KRISTIANSEN, K.; FARGENTUN, H.; VIK, H.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 year reduces body fat mass in healthy overweight humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, p. 1118-1125, 2004.

GAULLIER, J. Supplementation with Conjugated Linoleic Acid for 24 Months Is Well Tolerated by and Reduces Body Fat Mass in Healthy, Overweight Humans. *J. Nutr.* v.135, p. 778–784, 2007.

GLANER MF, ROSÁRIO WC. Validação cruzada de técnicas antropométricas para a estimativa da gordura corporal em homens. *Revista Digital - Buenos Aires - Año 10 - n 82*, 2005. Disponível em <[http:// www.efdeportes.com/efd82/antrop.htm](http://www.efdeportes.com/efd82/antrop.htm)>. Acesso em: 18 abr. 2009.

GLANER, M.F.; RODRIGUEZ, C.R;A. Validação de equações para estimar a densidade corporal e/ou percentual de gordura para militares masculinos. *Trein Desportivo.*, v. 4, n. 3, p. 29-36, 1999.

GOMES, A. I. S.; RIBEIRO, B. G.; SOARES, E. A. Caracterização nutricional de jogadores de elite de futebol de amputados. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v. 11, nº1, Jan/Fev, 2005.

GOOSSENS, G.H. The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiol Behav.*, v. 94, n. 2, p. 206-218, 2008.

HARGRAVE, K.M.; AZAIN, M.J.; MINER, J.L. Dietary coconut oil increases conjugated linoleic acid-induced body fat loss in mice independent of essential fatty acid deficiency. *Biochim Biophys Acta*;v. 1737, p. 52-60, 2005.

HARGRAVE, K.M.; MEYER, B.J.; LI, C.; AZAIN, M.J.; BAILE, C.A.; MINER, J.L. Influence of dietary conjugated linoleic acid and fat source on body fat and apoptosis in mice. *Obes Res*;v. 12, p. 1435– 1444, 2004.

HENRIKSEN, E.J.; TEACHEY, M.K.; TAYLOR, Z.C. et al. Isomer-specific actions of conjugated linoleic acid on muscle glucose transport in the obese Zucker rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* v. 285, p. E98– E105, 2003.

HEYMSFIELD, S.B.; LOHMAN, T.; WANG, Z.M.; SCOTT, B. Going Human Body Composition. *Champaign: Human Kinetics*, p. 524, 2005.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – PESQUISA DE ORÇAMENTO FAMILIAR (POF) 2002/2003 - Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional no Brasil, 2004.

IP, C.; CHIN, S. F.; SCIMECA, J. A.; PARIZA, M. W. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res*, v. 51, p.6118-6124, 1991.

IP, C.; DONG, Y.; IP, M. M.; BANNI, S.; CARTA, G. Conjugated linoleic acid isomers and mammary cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, 2002.

IP, C.; JIANG, C.; THOMPSON, H. J.; SCIMECA, J. A. Retention of conjugated linoleic acid in the mammary gland is associated with tumor inhibition during the post – initiation phase of carcinogenesis. *Carcinogenesis*, v. 18, p.755-759, 1997.

JÉQUIER E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann N Y Acad Sci.*, v. 967, p. 379-388, 2002.

JONES, E. L.; SHINGFIELD, K. J.; KOHEN, C.; JONES, A. K.; LUPOLI, B.; GRANDISON, A. S.; BEEVER, D. E.; WILLIAMS, C. M.; CALDER, P. C.; YAQOOB, P. Chemical, Physical, and Sensory Properties of Dairy Products Enriched with Conjugated Linoleic Acid. *J. Dairy Sci.*, v. 88, p.2923–2937, 2005.

KAMIMURA, M.A.; AVESANI, C.M.; CENDOROGLO, M.; CANZIANI, M.E.F.; DRAIBE, S.A.; CUPPARI, L. Comparison of skinfold thicknesses and bioelectrical impedance analysis with dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of body fat in patients on long-term haemodialysis therapy. *Nephrol Dial Transplant.*, v. 18, n. 1, p. 101-105, 2003.

KANG, K.; MIYAZAKI, M.; NTAMBI, J.M.; PARIZA, M.W. Evidence that the anti-obesity effect of conjugated linoleic acid is independent of effects on stearoyl-CoA desaturase1 expression and enzyme activity. *Biochem Biophys Res Commun* v.315, p. 532–537, 2004.

KELLEY, , D. S.; SIMON, V. A.; TAYLOR, P. C. Dietary supplementation with conjugated linoleic acid increased its concentration in human peripheral blood mononuclear cells, but did not alter their function. *Lipids*, v. 36, p. 669-674, 2001.

KIM, E.J.; HOLTHUIZEN, P.E.; PARK, H.S.; HA, Y.L.; JUNG, K.C.; PARK, J.H. Trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid inhibits Caco-2 colon cancer cell growth. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* v. 283, p. G357– 337, 2002.

KLOSS, R.; LINSCHIED, J.; JOHNSON, A.; et al. Effects of conjugated linoleic acid supplementation on blood lipids and adiposity of rats fed diets rich in saturated versus unsaturated fat. *Pharmacol Res* v. 51, p. 503-507, 2005:

KOBA K, AKAHOSHI A, YAMASAKI M, et al. Dietary conjugated linolenic acid in relation to CLA differently modifies body fat mass and serum and liver lipid levels in rats. *Lipids*; v. 37, p. 343–350, 2002.

KOTHER, P. *Administração de Marketing*. São Paulo: Ed Pearson – Prentice Hall, 2000.

KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S.A.; WRIGHT, S.; TSO, P.; CZARNECKI S, K. Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *J Am Coll Nutr* v. 19, p.:472S– 477S, 2000.

LAFONTAN M. Fat cells: afferent and efferent messages define new approaches to treat obesity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, v. 45, p. 119-146, 2005.

LAMBERT, E.V.; GOEDECKE, J.H.; BLUETT, K.; HEGGIE, K.; CLAASSEN, A.; RAE, D.E.; WEST, S.; DUGAS, J.; DUGAS, L.; MELTZER, S.; CHARLTON, K.; MOHEDE, I. Conjugated linoleic acid versus high-oleic acid sunflower oil: effects on energy metabolism, glucose tolerance, blood lipids, appetite and body composition in regularly exercising individuals. *Brit. J. Nutr.* v. 97, n. 5, p. 1001–1011, 2007.

LARSEN, T. M. Conjugated linoleic acid supplementation for 1y does not prevent weight or body fat regain. *Am J Clin Nutr*, v. 83, p. 606-612, 2006

LASKEY, M. A. Dual-energy x-ray absorptiometry and body composition. *Nutrition* 12: 45–51, 1996.

LASO, N.; BRUGUÉ, E.; VIDAL, J.; 2, ROS, E.; ARNAIZ, J.A.; CARNÉ, X.; VIDAL, S.; MAS, S.; DEULOFEU, R.; LAFUENTE, A. Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid (isomers cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12) on body composition and metabolic syndrome components. *British J. Nutr.*, v. 98, p. 860–867, 2007.

LEE, K.N.; KRITCHEVSKY, D.; PARIZA, M.W. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, v. 108, p. 19-25, 1994.

LOBO, B. W. P. Avaliação da estabilidade físico-química de misturas totais de nutrientes para uso intra-venoso neonatal. Dissertação de mestrado apresentado ao programa de pos-graduação em ciências farmacêuticas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005, p.138.

LOBO, G.S.; GUEVARA, D.L.; ZERBONE, A. Densitometria ósea em mujeres chilenas em edad fértil: correlación com valores referenciales y variables antropométricas. *Rev Med Chile*, v.132, p.681-690, 2004.

LYNCH, J. M.; LOCK, A. L.; DWYER, D. A.; NOORBAKHSH, R.; BARBANO, D. M.; BAUMAN, D. E. Flavor and Stability of Pasteurized Milk with Elevated Levels of Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid. *J. Dairy Sci.*, v. 88, p.489–498, 2005.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STAMP, S. Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 12ª Ed. Editora Elsevier. 2005 1358p.

MALINA, R.M.; KATZMARZ, P.T. Validity of the body mass index as na indicator of the risk and presence of overweight in adolescents. *Am J Clin Nutr*, v.70, p.131-136, 1999.

MALPUECH-BRUGERE, C.; VERBOEKET-VAN DE VENNE, W. P.; MENSINK, R. P.; ARNAL, M. A; MORIO, B.; BRANDOLINI, M.; SAEBO, A.; LASSEL, T. S.; CHARDIGNY, J. M.; SEBEDIO, J. L.; BEAUFRERE, B. Effects of two conjugated linoleic acid on body fat mass in overweigh humans. *Obesity Research*, v. 12, p. 591-598, 2004.

MATSUBARA, S. Alimentos Funcionais: Uma tendência que abre perspectivas aos laticínios, Revista Laticínios, v. 6, n. 34, 2001.

McARDLE, W.D.; KATCH, F. I.; KATCH, V.L. *Fisiologia do exercício Energia, Nutrição e Desempenho Humano*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 113, 2003.

McCLEMENTS, D.J. Food emulsions: principles, practice and thecniques. CRC Press, U.S., 1999. 379p.

MEDINA, E.A.; HORN, W.F.; KEIMN, N.L.; HAVEL, P.J.; BENITO, P.; KELLEY, D.S.; NELSON, G.J.; ERICKSON, K.L. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effect on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids*, v. 35, p. 783–788, 2000.

MEIRA, A.L.B.A.; ROTONDARO, R. A integração de fornecedores no processo de desenvolvimento de novos produtos na indústria de alimentos. *GEPROS – Ano 1, n 2*, p. 183-193, 2006.

MIGLIETTA, A.; BOZZO, F.; BOCCA, C., et al. Conjugated linoleic acid induces apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells through ERK/MAPK signalling and mitochondrial pathway. *Cancer Lett* v 234, p. 149–157, 2006.

MIRAND, P.P.; ARNAL-BAGNARD, M.A.; MOSONI, L.; FAULCONNIER, Y.; CHARDIGNY, J.M.; CHILLIARD, Y. Cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid isomers do not modify body composition in adult sedentary or exercised rats. *J Nutr* v.;134, p. 2263 –2269, 2004.

MOUGIOS, V.; MATSAKAS, A.; PETRIDOU, A.; RING, S.; SAGREDOS, A.; MELISSOPOULO, A.;TSIGILIS, N.; NIKOLAIDS, M. Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 12(10), p. 585-594, 2001.

MUNDAY, J.S.; THOMPSON, K.G.; JAMES, K.A.; Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model. *Brazilian Journal of Nutrition*, v. 81, p. 251–255, 1999.

NAZARE, J.A.; DE LA PERRIERE, A.B.; BONNET, F.; DESAGE, M.; PEYRAT, J.; MAITREPIERRE, C.; LOUCHE-PELISSIER, C.; BRUZEAU, J.; GOUDABLE, J.; et al.

Daily intake of conjugated linoleic acid-enriched yoghurts: effects on energy metabolism and adipose tissue gene expression in healthy participants. *Br J Nutr.*, v. 97, p. 273–280, 2007.

NICOLOSI, R.J.; ROGERS, E.J.; KRITCHEVSKY, D.; SCIMECA, J.A.; HUTH, P.J. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery*, v. 22, p. 266-277, 1997.

NIEMAN, D.C. You asked for it. Question Authority. *ACSM's Health & Fitness*. v.7, n.4, p. 5-6, 2003.

NIEUWENHOVE, V.C.P.; OLISZEWSKI, R.; GONZÁLEZ, S.N.; PÉREZ-CHAIA, A.B. Conjugated linoleic acid conversion by dairy bacteria cultured in MRS broth and buffalo milk. *Letters Appl Microbiol*, v. 44, n. 5, p. 467-474, 2007.

NORGAN, N.G. Laboratory and field measurements of body composition. *Public Health Nutr.*, v. 8, n. 7<sup>a</sup>, p.1108–1122, 2005.

NUNES, R.R.; CLEMENTE, E.L.S.; PANDINI, J.A.; COBAS, R.A.; DIAS, V.M.; SPERANDEI, S.; GOMES, M.B. Confiabilidade da classificação do estado nutricional obtida através do IMC e três diferentes métodos de percentual de gordura corporal em pacientes com diabetes melito tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 53, n. 3, p. 360-367, 2009.

OCHOA, J.J.; FARQUHARSON, A.J.; GRANT, I.; MOFFAT, L.E.; HEYS, S.D.; WAHLE, K.W. Conjugated linoleic acids (CLAs) decrease prostate cancer cell proliferation: different molecular mechanisms for cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 isomers. *Carcinogenesis* v. 25, p. 1185– 1191, 2004.

OMS - Organização Mundial da Saúde. *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas*. Série de informes Técnicos 797. Geneva: OMS, 1990, 229 p.

OMS – Organização Mundial da Saúde. World Health Organization (WHO). *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO Consultation. Technical Report Series 894. Geneva; 2000.

OPAS (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE) - Doenças crônico-degenerativas e obesidade: Estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde, Brasília, 2003.

O'SHEA, M.; BASSAGANYA-RIERA, J.; MOHED, I. C. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, p. 1199S-1206S, 2004.

OSTROWSKA, E.; DUNSHEA, F. R.; MURALITHARAN, M.; CROSS, R. F.; Comparison of silver-ion high-performance liquid chromatographic quantification of free and methylated conjugated linoleic acids. *Lipids*, v. 35, p. 1147-1153, 2000.

OSTROWSKA, E.; MURALITHARAN, M.; CROSS, R. F.; BAUMAN, D. E.; DUNSHEA, F. R. Dietary conjugated linoleic acid increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *Journal of Nutrition*, v.129, p.2037-2042, 1999.

PALOMBO, J.D.; GANGULY, A.; BISTRAN, B.R.; MENARD, M.P. The antiproliferative effects of biologically active isomers of conjugated linoleic acid on human colorectal and prostatic cancer cells. *Cancer Lett* v. 177, p. 163–172, 2002.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, v. 40, p. 283-298, 2001.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. L.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.; PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, v. 31, p.853-858, 1997.

PASCHOAL, J.J.; ZANETTI, M.A.; DEL CLARO, G.R.; MELO, M.P.; PUGINE, S.P.; CUNHA, J.A. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas holandesas alimentadas com soja extrusada e selênio orgânico. *Pesq. Agropec.Bras.*, v.42, n.12, p.1793-1799, 2007.

PERMANA, P.A.; MENGE, C.; REAVEN, P.D. Macrophage-secreted factors induce adipocyte inflammation and insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun*. v. 341, n. 2, p. 507-514, 2006.

PETRIDOU, A.; MOUGIOS, V.; SAGREDOS, A. Supplementation with CLA: isomer incorporation into serum lipids and effect on body fat of women. *Lipids*. v. 38, n. 8, p. 805–811, 2003.

PICHARD, C.; KYLE, U.G.; JANSSENS, J.P.; BURDET, L.; ROCHAT, T.; SLOSMAN, D.O. *et al.* Body composition by X-ray absorptiometry and bioelectrical impedance in chronic respiratory insufficiency patients. *Nutrition*, v. 13, p. n.11-12, p. 952-958, 1997.

PROFIQUA - Associação Brasileira dos Profissionais da Qualidade de Alimentos. *Análise sensorial, testes descritivos e afetivos*. 1. ed. Campinas, 2002.

QUEIROZ, J.C.F.; ALONSO-VALE, M.I.C.; CURI, R.; LIMA, F.B. Controle da adipogênese por ácidos graxos. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 53, n. 5, p. 582-594, 2009.

RAFF, M.; THOLSTRUP, T.; TOUBRO, S.; BRUUN, J.M.; LUND, P.; STRAARUP, E.M.; CHRISTENSEN, R.; SANDBERG, M.B.; MANDRUP, S. Conjugated Linoleic Acids Reduce Body Fat in Healthy Postmenopausal Women. *J. Nutr.* v. 139, p. 1–6, 2009.

RAHMAN, S. M.; WANG, Y. M.; YOTSUMOTO, H.; CHA, J. Y.; INOUE, S.; YANAGITA, T. Effects of conjugated linoleic acid on serum leptin concentration, body-fat accumulation, on  $\beta$ -oxidation of fatty acids in OLETF rats. *Nutrition*, v. 131, p.2722-2731, 2001.

RAINER, L.; HEISS, C. J. Conjugated linoleic acid: health implications and effects on body composition. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 104, p.963-968, 2004.

RAMASWAMY, N.; BAER, R. J.; SCHINGOETHE, D. J.; HIPPEN, A. R.; KASPERSON, K. M.; WHITLOCK, L. A. Short Communication: Consumer Evaluation of Milk High in Conjugated Linoleic Acid. *J. Dairy Sci.*, v. 84, p.1607–1609, 2001.

RAWLE, A. The importance of particle sizing to the coatings industry Part 1: Particle size measurement. *Advances Color Sci. Technol.*, v. 5, n. 1, 2002.

RECH, C.R.; PETROSKI, E.D.; SILVA, R.C.R.; SILVA, J.C.N. Indicadores antropométricos de excesso de gordura corporal em mulheres. *Rev Bras Med Esporte*, v.12, n.3, p.119-124, 2006.

REIS, R.C.; MIRIM, V.P.R. Teste de aceitação. In: MIRIM, V.P.R. *Análise sensorial: estudos com consumidores*. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 2006, v.1, p.67-83.

REZENDE, F.; FRANCESCHINNI, L.R.; ROSADO, S.G.; RIBEIRO, R.; MARINS, J.C.B. Revisão crítica dos métodos disponíveis para avaliar a composição corporal em grandes estudos populacionais e clínicos. *ALAN*, v.57, n.4, 2007.

RICARDO, D.R.; ARAÚJO, C.G.S. Índice de massa corporal: um questionamento baseado em evidências. *Arq Bras Cardiol.*, v. 79, n. 1, p. 61-69, 2002.

RISERIU, U.; ARNER, P.; BRISMAR, K.; VESSBY, B. Treatment with dietary trans-10cis-12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, v.25, p.1516–1521, 2002.

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. *Int J Obesity*, v.25, p.1129-1135, 2001.

RITZENTHALER, K.L.; MCGUIRE, M.K.; FALEN, R.; SHULTZ, T.D.; DASGUPTA, N.; MCGUIRE, M.A. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment underestimates actual intake by food duplicate methodology. *J Nutr*, v. 131, p. 1548-1554, 2001.

RODRIGUES, M.N.; SILVA, S.C.; MONTEIRO, W.D.; FARINATTI, P.T.V. Estimativa da gordura corporal através de equipamentos de bioimpedância, dobras cutâneas e pesagem hidrostática. *Rev Bras Med Esporte*, v.7, n.4, p.125-131, Jul/Ago, 2001.

ROMAN, J.A; SGARBIERI, V.C. Efeito da hidrólise enzimática sobre propriedades funcionais de caseína bovina coagulada pela ação da quimosina. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 25, n. 3, p. 468-474, 2005.

RYDER, J.W.; PORTOCARRERO, C.P; SONG, X.M., et al. Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes*, v. 50, p. 1149– 1157, 2001.

SALAS-SALVADÓ, J.; MÁRQUEZ-SANDOVAL, F.; BULLÓ, M. Conjugated linoleic acid intake in humans: a systematic review focusing on its effect on body composition, glucose, and lipid metabolism, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 46, n. 6, p. 479 — 488, 2006.

SALEM, M.; FERNANDES FILHO, J.; PIRES NETO, C.S. Desenvolvimento e validação de equações antropométricas específicas para a determinação da densidade corporal de mulheres militares do Exército Brasileiro. *Rev Bras Med Esporte.*, v. 10, n. 3, p. 141-146, 2004.

SCHOELLER DA, TYLAVSKY FA, BAER DJ, CHUMLEA WC, EARTHMAN CP, FUERST T, et al. QDR 4500A dual-energy X-ray absorptiometer underestimates fat mass in comparison with criterion methods in adults. *Am J Clin Nutr.*, v. 81, n. 5, p. 1018-1125, 2005.

SFORZINI, A, BERSANI, G, STANCARI, A, GROSSI, G, BONOLI, A, CESCHEL, G.C. Analysis of all-in-one parenteral nutrition admixtures by liquid chromatography and laser diffraction: study of stability. *J Pharm and Biom. Anal*; v.24, p. 1099-1109, 2001.

SHER, J.; PRONCZUK, A.; HAJRI, T.; HAYES, K. C. Dietary conjugated linoleic acid lowers plasma cholesterol during cholesterol supplementation, but accentuates the atherogenic lipid profile during the acute phase response in hamsters. *J. Nutr.*, v. 133, p.456-460, 2003.

SLATER, B.; MARCHIONI, D.L.; FISBERG, R.M. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. *Rev Saúde Pública*.v 38, n. 4, p. 599-605, 2004.

SMEDMAN, A.; BASU, S.; JOVINGE, S.; FREDRIKSON, G.N.;VESSBY, B. Conjugated linoleic acid increased C-reactive protein in human subjects. *Brit.J. Nutr.*, v. 94, p. 791–795, 2005.

SMEDMAN, A.;VESSBY, B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans - metabolic effects. *Lipids*, v. 36, p. 773-778, 2001.

SPALDING, K.L.; ARNER, E.; WESTERMARK, P.O.; BERNARD, S.; BUCHHOLZ, B.A.; BERGMANN, O, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature.*, v. 453, n. 7196, p. 783-787, 2008.

STONE, H.; SIDEL, J. *Sensory evaluation practice*. New York: Academic Press, 1993. 338p.

St-ONGE, M.P.; ROSS, R.; PARSONS, W.D.; JONES, P.J.H. Medium-chain triglycerides increase energy expenditure and decrease adiposity in overweight men. *Obes Res.*, v. 11, n. 3, p. 395-402, 2003.

SUGANO, M.; TSUJITA, A.; YAMASAKI, M.; NANDUCHI, M.; YAMADA, K. Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats. *Lipids*, v. 33, p. 521-527, 1998.

TANMAHASAMUT, P.; LIU, J.; HENDRY, L.B.; SIDELL, N. Conjugated linoleic acid blocks estrogen signaling in human breast cancer cells. *J Nutr* v. 134, p. 674–680, 2004.

TAYLOR, J.S.W.; WILLIAMS, S.R.P.; RHYS, R.; JAMES, P.; FRENNEAUX, M.P. Conjugated linoleic acid impairs endothelial function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* available at <http://www.atvbaha.org>, 2006.

TERPSTRA, A. H. M. Differences between humans and mice in efficacy of the body fat lowering effect of conjugated linoleic acid: role of metabolic rate. American Society for Nutritional Sciences. *Journal of Nutrition*, v. 131, p. 2067-2068, 2001.

TERPSTRA, A. H. M.; BEYNEN, A. C.; EVERTS, S.; KOCSIS, S.; KATAN, M. B.; ZOCK, P. L. The decrease in body fat mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta. *Journal of Nutrition*, v. 132, p.940-945, 2002.

THOLSTRUP, T.; RAFF, M.; STRAARUP, E.M.; LUND, P.; BASU, S.; BRUUN, J.M. An oil mixture with trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid increases markers of



inflammation and in vivo lipid peroxidation compared with cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in postmenopausal women. *J Nutr.*, v. 138, p. 1445–1451, 2008.

THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. *J. Int. Med. Res.*, v. 29, p. 392–396, 2001.

TILG, H.; MOSCHEN, A.R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol.* v. 6, n 10, p. 772-783, 2006.

TOTHILL, P., A. AVENELL, J. LOVE, D. M. REID. Comparisons between Hologic, Lunar, and Norland dual-energy x-ray absorptiometers and other techniques used for whole-body soft tissue measurements. *Eur. J. Clin. Nutr.* v. 48, p. 781–794, 1994.

TRICON, S.; BURDGE, G.; KEW, S.; BANERJEE, T.; TUSSELL, J.; JONES, E.; GRIMBLE, R.; WILLIAMS, C.; YAQOUB, P.; CALDER, P. Opposing effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 80, p. 614–620, 2004.

TRICON, S.; BURDGE, G.C.; JONES, E.L.; RUSSELL, J.J.; EL-KHAZEN, S.; MORETTI, E.; HALL, W.L.; GERRY, A.B.; LEAKE, D.S.; GRIMBLE, R.F.; WILLIAMS, C.M.; CALDER, P.C.; YAQOUB, P. Effects of dairy products naturally enriched with cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid on the blood lipid profile in healthy middle-aged men. *Am J Clin Nutr.*, v. 83, p. 744 –753, 2006.

TSUBOYAMA-KASAOCA, N.; MIYAZAKI, H.; KASAOCA, S.; ESAKI, O. Increasing the amount of fat in a conjugated linoleic acid supplemented diet reduces lipodystrophy in mice. *Journal of Nutrition*, v. 133, p. 1793-1799, 2003.

TSUJI, H.; KASAI, M.; TAKEUCHI, H.; NAKAMURA, M.; OKAZAKI, M.; KONDO, K. Dietary medium-chain triacylglycerols suppress accumulation of body fat in a double-blind, controlled trial in healthy men and women. *J Nutr.* v. 131, n. 11, p. 2853-2859, 2001.

TURPEINEN, A.A.; YLONEN, N.; VON WILLEBRAND, E.; BASU, S.; ARO, A. Immunological and metabolic effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid in subjects with birch pollen allergy. *Brit. J. Nutr.* v. 100, n. 1, p. 112-119, 2008.

USP PHARM FORUM - UNITED STATES PHARMACOPEIA. Globule Size Distribution in Lipid Injectable Emulsion. Proposed chapter, In-process revision. Pharmacopeial Forum: v. 30, n. 6, 2004.

VOORRIPS, L.E.; BRANTS.,H.A.; KARDINAAL, A.F.; HIDDINK, G.J.; VAN DEN BRANDT, R.A.; GOLDBOHM, R.A. Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. *Am J Clin Nutr* v. 76, p. 873–882, 2002.

WAHRLICH, V.; ANJOS, L. A. Validação de equações de predição da taxametabólica basal em mulheres residentes em Porto Alegre, RS, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 35(1), p. 39-45, 2001.

WAITZBERG, D. L. Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica. 3ª ed, São Paulo: Editora Ateneu, 2000.

WANG, Z.; HESHKA, S.; GALLAGHER, D.; BOOZER, C.N.; KOTLER, D.P.; HEYMSFIELD, S.B. Resting energy expenditure-fat-free mass relationship: new insights provided by body composition modeling. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, v. 279, p. E539-545, 2000.

WARGENT E, SENNITT MV, STOCKER C, et al. Prolonged treatment of genetically obese mice with conjugated linoleic acid improves glucose tolerance and lowers plasma insulin concentration: possible involvement of PPAR activation. *Lipids Health Dis*, v. 4, p. 3, 2005.

WEST, D. B.; BIOHM, F. Y.; TRUETT, A. A.; DE LANY, J.P. Conjugated linoleic acid persistently increases total expenditure in AKR/J mice increasing uncoupling protein gene expression. *Journal of Nutrition*, v. 130, p.2471-2477, 2000.

WEST, D. B.; DeLANY, J. P.; CAMET, P. M.; BLOHM, F.; TRUETT, A. A.; SCIMECA, J. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *American Journal of Physiology*, v. 275(3 Pt 2), p. R667-672, sep, 1998.

WEST, D. B.; DeLANY, J. P.; CAMET, P. M.; BLOHM, F.; TRUETT, A. A.; SCIMECA, J. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *American Journal of Physiology*, v. 275(3 Pt 2), p. R667-672, sep, 1998.

WHALE, K. W. J.; HEYS, S. D.; ROTONDO, D. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research*, v. 43, p.553-587, 2004.

WHIGHAM, L. D.; COOK, E. B.; STAHL, J. L.; SABAN, R.; BJORLING, D. E. CLA reduces antigen-induced histamine and PGE (2) release from sensitized guinea pig tracheae. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, v. 280(3), p. R908-R912, 2001.

WHIGHAM, L.D.; O'SHEA, M.; MOHEDE, I.C.M.; WALASKI, H.P.; ATKINSON, R.L. Safety profile of conjugated linoleic acid in a 12-month trial in obese humans. *Food Chem Toxicol*, v.42, p. 1701-1709, 2004.

WILLE, G.M.F.C.; WILLE, A.S.; KOEHLER, H.S.; FREITAS, R.J.S.; HARACEMIV, S.M.C. Práticas de desenvolvimento de novos produtos alimentícios na indústria paranaense. *Rev. FAE, Curitiba*, v.7, n.2, p.33-45, jul./dez. 2004.

WILSON, T. A.; NICOLOSI, R. J.; CHRYSAM, M.; KRITCHEVSKY, D. Conjugated linoleic acid reduces early aortic atherosclerosis greater than linoleic acid in hypercholesterolemic hamsters. *Nutrition Research*, v. 20(12), p.:1795–1805, 2000.

WOHLERS, M.; NASCIMENTO, C.M.; XAVIER, R.A.; RIBEIRO, E.B.; SILVEIRA, V.L. Participation of corticosteroids and effects of indomethacin on the acute inflammatory response of rats fed n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acid-rich diets. *Inflammation.*, v.27, n. 1, p. 1-7, 2003.

WONG, M.W.; CHEW, B.P.; WONG, T.S.; HOSICK, H.L.; BOYLSTON, T.D.; SCHULZ, T.D. Effects of dietary conjugated linoleic on lymphocyte function and growth of mammary tumors in mice. *Anticancer Res.*, v. 17, p. 987–993, 1998.

YANG, L.; YING, C.; CHEN, Z. Stability of conjugated linoleic acid isomers in egg yolk lipids during frying. *Food Chemistry*, v. 86, p. 531-535, 2004.

YANG, M. PARIZA, M. W.; COOK, M. E. Dietary conjugated linoleic acid protects against end stage disease of lupus erythematosus in the NZB/W F1 mouse. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* v.22, p. 433-449, 2000.

ZAMBELL, K. L.; KEIM, N.L.; VAN LOAD, M. D.; GALE, B.; BENITO, P.; KELLEY D. S.; NELSON, G. J. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition. *Lipids*, v. 35, n. 7, p. 777-782, 2000.

# TRABALHO EXPERIMENTAL

## APRESENTAÇÃO

A parte experimental deste trabalho está apresentada na forma de capítulos independentes, compreendendo um total de seis, cujo fluxograma está apresentado na Figura 1.

No primeiro capítulo, foi conduzido um estudo visando estimar o consumo de ácido linoléico conjugado (CLA) no Brasil. Primeiramente, foi feito um levantamento de dados de aquisição de alimentos considerados como fontes de CLA pela população brasileira (alimentos-fontes), obtidos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), através da "Pesquisa de Orçamento Familiar" (POF) de 2002-2003. Os alimentos-fontes de CLA selecionados neste trabalho foram o leite de vaca e seus derivados (queijo, iogurte, creme de leite, leite condensado e manteiga), além da carne de gado bovino. O teor de gordura nestes alimentos foi estimado por meio de tabelas de composição química de alimentos, e a quantidade de CLA foi retirada de artigos científicos publicados em periódicos internacionais, que abordaram a quantificação desta substância nestes alimentos. O teor de CLA de cada alimento foi calculado por regra de três simples, considerando o teor de gordura dos alimentos e o teor de CLA. Finalmente, a ingestão *per capita* diária de CLA no Brasil foi estimada pela soma do teor de CLA dos alimentos, dividido por 365 (dias do ano).

O segundo capítulo abordou os estudos realizados para o desenvolvimento laboratorial de uma bebida láctea sabor chocolate, adicionada de CLA, com ênfase na avaliação da incorporação desta substância, através de análise de parâmetros envolvidos na estabilidade de emulsões. Assim, foram testados o tipo de equipamento (liquidificador e ultraturrax) e o tempo de agitação da bebida (1, 3 e 5 min) e a incorporação foi avaliada pelos métodos de inspeção visual e microscopia ótica.

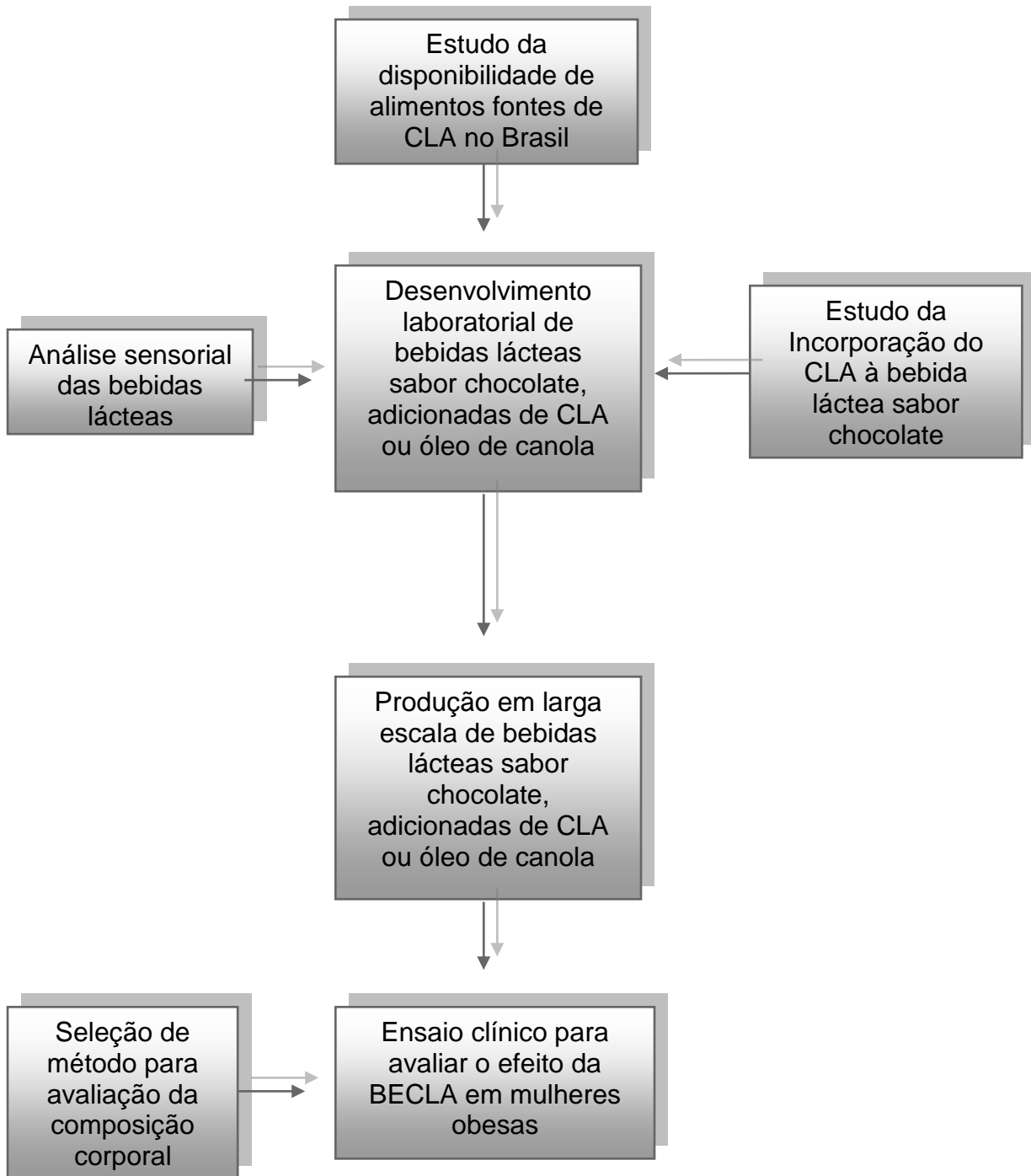
No terceiro capítulo, avaliou-se o efeito da adição de CLA, na forma oleosa, ou de óleo de canola, em bebidas lácteas sabor chocolate, usando-se como ferramenta a análise sensorial. Primeiramente, as bebidas foram preparadas, levando-se em consideração os melhores parâmetros encontrados no estudo realizado no capítulo II. A avaliação sensorial das bebidas lácteas sabor chocolate foi conduzida em três etapas distintas. Na primeira, foi aplicado o teste triangular para similaridade e, na segunda, o afetivo de aceitação com bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA (2,5%) ou

óleo de canola (2,5%). Na terceira etapa, foi aplicado um teste afetivo de aceitação com bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de duas concentrações de CLA, 1,25% e 2,5%.

No quarto capítulo, foram produzidas, em larga escala, duas bebidas lácteas sabor chocolate, uma adicionada de CLA (BECLA) e outra de óleo de canola (BECAN), a partir dos dados obtidos no desenvolvimento laboratorial (capítulos II e III), com ênfase no estudo das características químicas, estabilidade oxidativa e aceitação do produto final. Todas as etapas do processo industrial foram desenvolvidas a partir da adaptação das técnicas utilizadas em escala laboratorial. O estudo da composição química das bebidas baseou-se na determinação da umidade, cinzas, proteínas, lipídios, além do cálculo do teor de carboidratos e do valor calórico. A avaliação da estabilidade das bebidas foi realizada pelas medidas do pH e da estabilidade oxidativa, pelo método de TBARS. A aceitação global das bebidas foi avaliada por teste afetivo.

No quinto capítulo, foi realizada uma avaliação da gordura corporal de mulheres obesas, empregando-se 3 metodologias distintas: antropometria, bioimpedância (BIA) e absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA), comparando-se os resultados obtidos.

O sexto capítulo refere-se ao experimento clínico para avaliação do efeito da suplementação dietética do CLA, adicionado à bebida láctea, sobre a composição corporal, a taxa metabólica de repouso (TMR), a ingestão alimentar (IA) e os parâmetros bioquímicos, em um grupo formado por mulheres obesas. Participaram do estudo, vinte e oito voluntárias que ingeriram uma bebida láctea adicionada de CLA ou placebo (contendo óleo de canola), durante 16 semanas. A composição corporal foi avaliada por DEXA, a TMR por calorimetria indireta e a IA por registro dietético de 3 dias. Os parâmetros bioquímicos consistiram dos seguintes exames: glicose de jejum, colesterol total e suas frações, triglicerídeos, transaminases e proteína C reativa.



**Figura 1** – Fluxograma da parte experimental desenvolvida neste trabalho. CLA: ácido linoléico conjugado. BECLA: bebida láctea sabor chocolate, adicionada de CLA.

## CAPÍTULO I

# DISPONIBILIDADE DE ALIMENTOS FONTES DE ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO (CLA) NO BRASIL

## RESUMO

O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a disponibilidade de alimentos fontes de ácido linoléico conjugado (CLA) nos domicílios das famílias brasileiras. Para as análises foram adotadas as informações obtidas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística por meio da Pesquisa de Orçamentos Familiares (2002-2003). Os teores de gordura nos alimentos selecionados foram retirados de tabelas de composição química de alimentos, e o de CLA foi levantado em artigos publicados em periódicos internacionais. Com o cruzamento destes dados foi possível estimar que a disponibilidade de CLA nos domicílios brasileiros é de 108 mg.g<sup>-1</sup> de gordura, usando-se como alimentos-fontes o leite de vaca e seus derivados, além da carne de gado bovino. Este valor encontra-se abaixo dos valores estimados para que o CLA exerça funções benéficas para saúde, que seria em torno de 3,5 mg/dia, entretanto, está similar aos valores encontrados sobre o consumo de CLA em outros países.

**Palavras-chave:** ácido linoléico conjugado, consumo de alimentos, disponibilidade alimentar.

## 1 INTRODUÇÃO

Os dados de disponibilidade de alimentos são considerados importantes para a obtenção de informações sobre o padrão alimentar de uma população e sua evolução ao longo do tempo, possibilitando, por exemplo, estimar a qualidade de nutrientes da dieta (BECKER, 2001).

A partir dos levantamentos de dados populacionais, a exemplo do implementado por meio das Pesquisas de Orçamentos Familiares (POF) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), é possível avaliar a disponibilidade de alimentos nos lares brasileiros. Ainda assim, as informações relativas ao consumo alimentar da população brasileira podem ser consideradas escassas (MORATO e SILVA, 2008).

Para realizar o POF 2002-2003, o IBGE coletou dados nas áreas urbanas e rurais em todo o território nacional, entre julho de 2002 a junho de 2003, abrangendo uma amostra de 48.470 domicílios. As informações referentes à aquisição de alimentos pelas famílias foram obtidas por meio de um registro diário, durante sete dias consecutivos, com descrição detalhada de cada produto adquirido para consumo (IBGE 2004).

O ácido linoléico conjugado (CLA) é um ácido graxo insaturado que compreende um grupo de isômeros posicionais e geométricos derivados do ácido linoléico (C18:2n-6) (RISÉRUS *et al.*, 2001). O CLA é produzido por fermentação bacteriana no trato digestivo de animais ruminantes, portanto, as principais fontes são o leite e seus derivados, além da carne de animais ruminantes (EVANS *et al.*, 2002). Apesar de ser encontrado em óleos vegetais, a concentração de CLA é particularmente alta em carnes e leites de ruminantes, onde pode alcançar um valor de 0,65% do total de lipídeos (FRITSCHE & STEINHART, 1998).

Não foram encontrados na literatura informações sobre o consumo de (CLA) no Brasil e, mesmo em outros países, estes dados são escassos. Estima-se que a ingestão diária de CLA seja de aproximadamente 200 mg/dia e que o isômero predominante na dieta é o c9t11-CLA, chegando a 90% do consumo total de CLA em produtos lácteos (RITZENTHALER *et al.*, 2001).

Desta forma, o objetivo deste trabalho constituiu em identificar a disponibilidade de alimentos-fontes de CLA e estimar o seu consumo em domicílios brasileiros.



## 2 METODOLOGIA

Para estimar a ingestão diária per capita de CLA, primeiramente, foi feito um levantamento de dados de aquisição de alimentos considerados como fontes de CLA pela população brasileira (alimentos-fontes), obtidos por meio da POF 2002-2003 (IBGE2004). Os alimentos-fontes de CLA selecionados neste trabalho foram o leite de vaca e seus derivados (queijo, iogurte, creme de leite, leite condensado e manteiga), além da carne de gado bovino (RITZENTHALER *et al.*, 2001; EVANS *et al.*, 2002; RAINER & HEISS, 2004; WHIGHAM *et al.*, 2004). O teor de gordura nestes alimentos foi estimado por meio de tabelas de composição química de alimentos (FRANCO, 2001; NEPA-UNICAMP, 2006). As estimativas de quantidade de CLA nos alimentos-fontes foram feitas a partir dos valores observados na literatura científica (AKALIN *et al.*, 2007; BAUBLITS *et al.* 2007; ISMAIL *et al.*, 2007; LUNA *et al.*, 2007; NIEUWENHOVE *et al.*, 2007; PRANDINI *et al.*, 2007). O teor de CLA de cada alimento foi calculado por regra de três simples, considerando o teor de gordura dos alimentos e o teor de CLA. Finalmente, a ingestão per capita diária de CLA no Brasil foi estimada pela soma do teor de CLA dos alimentos, dividido por 365 (dias do ano). Para facilitar a comparação dos dados, o valor encontrado foi transformado para mg.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seleção dos alimentos-fontes de CLA baseou-se no fato que esta substância é produzida no rúmex de bovinos (e outros ruminantes) pela biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados da dieta, através de fermentação bacteriana (*Butyrovibrio fibrisolvens*) que isomeriza o ácido linoléico a CLA (EVANS *et al.*, 2002). Sendo assim, estes alimentos, provenientes de gado bovino, possuem um alto teor desta molécula, como pode-se observar na Tabela I.1.

Estudos demonstram que o processo de desnatação (retirada parcial ou total da gordura) do leite é responsável pela perda da maioria do CLA, restando apenas quantidades vestigiais nos alimentos. Atualmente, os laticínios contêm somente um terço do CLA que apresentavam antes de 1960 (DHIMAN *et al.*, 2000). Além disso, mudanças na alimentação do gado, como a alteração da fonte de óleo da ração, podem diminuir (DHIMAN *et al.*, 2000) ou aumentar (SANTOS *et al.*, 2001) o conteúdo de CLA na carne e no leite dos bovinos.

**Tabela I.1 – Teor de CLA em alimentos considerados suas fontes.**

Alimento <sup>1</sup>	Teor de CLA <sup>2</sup> (mg.g <sup>-1</sup> de gordura)
Leite	5,5
Queijo	4,9
Iogurte	3,28
Manteiga	4,7
Margarina	1,22
Creme de leite	0,55
Leite condensado	0,322
Carne de gado	4,3

<sup>1</sup> Alimentos derivados de gado bovino. <sup>2</sup> Média do teor de CLA (AKALIN *et al.*, 2007; BAUBLITS *et al.*, 2007; ISMAIL *et al.*, 2007; LUNA *et al.*, 2007; NIEUWENHOVE *et al.*, 2007; PRANDINI *et al.*, 2007).

O conteúdo de CLA no leite de vaca apresenta elevada variação de acordo com o tipo de manejo, raças e épocas do ano. Assim, o conteúdo de CLA em derivados do leite, como o iogurte, é reflexo da matéria-prima que lhes deu origem (DHIMAN *et al.*, 1999). O processo de pasteurização do leite parece aumentar o conteúdo de CLA. Assim, SHANTA *et al.* (1994) verificaram que iogurte desnatado, feito com leite pasteurizado, apresenta o conteúdo de CLA aumentado (5,25 mg de CLA.g<sup>-1</sup> de gordura) em relação ao que empregou leite não pasteurizado (4,40 mg de CLA.g<sup>-1</sup> de gordura). Numerosas propriedades fisiológicas atribuídas ao CLA já foram comprovadas, incluindo funções anticarcinogênicas (IP *et al.*, 2002; MA *et al.*, 2002), antiaterogênicas (SHER *et al.*, 2003), modificações na composição corporal (PARK *et al.*, 1997; BLANKSON *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; GAULLIER *et al.*, 2004) e modulação na função imune (COOK *et al.*, 1993).

Não foram encontrados na literatura dados sobre o consumo de CLA no Brasil. Assim sendo, este parâmetro foi estimado por meio do cruzamento de dados, como descrito na metodologia, e está apresentado na Tabela I.2.

Com relação ao consumo de CLA em outros países, alguns dados foram encontrados na literatura. Assim, estudos feitos nos Estados Unidos mostraram médias de 139 mg/dia de CLA em homens e mulheres jovens (HERBEL *et al.*, 1998) e de até 290 mg/dia de CLA em mulheres em fase de lactação que consumiam produtos lácteos. RITZENTHALER *et al.* (2001) encontraram valores de 176 mg/dia para homens e de 104 mg/dia para mulheres, também nos Estados Unidos. Na Suécia, o consumo foi estimado em 160 mg/dia (JIANG *et al.*, 1999). Em todos os trabalhos encontrados sobre

a estimativa de consumo do CLA foi relatado o alto consumo de produtos lácteos como a principal fonte desta substância.

**Tabela I.2** – Estimativa da disponibilidade de CLA e gordura nos domicílios brasileiros.

	Consumo anual per capita <sup>1</sup> (Kg)	Consumo anual per capita de gordura <sup>2</sup> (g)	Consumo anual per capita de CLA <sup>3</sup> (g.g <sup>-1</sup> gordura)	Estimativa da disponibilidade per capita de CLA <sup>4</sup> (mg.g <sup>-1</sup> de gordura)
Leite Integral	44,33	1330,00	7,31	
Queijo	1,79	357,20	1,75	
logurte	1,97	59,01	0,19	
Manteiga	0,32	265,68	1,24	
Margarina	1,62	1226,50	1,50	108,00
Creme de leite	0,30	91,08	0,05	
Leite condensado	0,53	46,11	0,01	
Carne de gado	16,90	2533,65	10,90	

<sup>1</sup> Fonte: IBGE - Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) 2002-2003. <sup>2</sup> Avaliação do teor de gordura em Tabelas de Composição Química de Alimentos. <sup>3</sup> Valores obtidos pelo cruzamento de dados do POF 2002-2003 e teor de CLA em artigos em periódicos internacionais. <sup>4</sup> Valor obtido pela soma da coluna 4, dividido por 365 (dias do ano) e dividido por 1000 para transformar para mg.

Deste modo, em comparação ao consumo observado em outros países, observou-se uma estimativa da disponibilidade de CLA semelhante pela população brasileira. Apesar dos resultados similares, é importante ressaltar que o POF 2002-2003 considerou que o alimento que foi adquirido pela população brasileira foi integralmente consumido e não houve a quantificação do consumo alimentar fora do domicílio. Entretanto, neste mesmo trabalho foi levantado que cerca de 25,74% da despesa com alimentação na zona urbana é destinada às refeições fora do domicílio e que deste total, 10,05% são gastos com o almoço e jantar, que contém uma maior quantidade de carnes (importante fonte de CLA). Cabe enfatizar que o consumo de alimentos de origem bovina no país varia consideravelmente entre as populações das diversas regiões, sendo o Sul, Sudeste e Centro Oeste os maiores consumidores (IBGE, 2004). Ainda, deve-se considerar as diferenças nas metodologias usadas, uma vez que nestes estudos internacionais a estimativa do consumo de CLA foi feita por amostragem (no máximo cem sujeitos), avaliando as dietas dos voluntários selecionados, enquanto que, usando o POF 2002-2003, tem-se uma amostragem mais fidedigna, pois este levantamento de dados considerou toda a população brasileira.

Ainda, é importante relacionar o Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT) que oferece alimentação ao trabalhador, em seu ambiente de trabalho, principalmente

nas regiões sul e sudeste. Estas refeições, que contém carnes e laticínios, não foram computadas no referido estudo. Diante disso, a avaliação da ingestão de CLA no Brasil é possível por meio de estimativas baseadas nas pesquisas de consumo alimentar realizadas. Por outro lado, ressalta-se que já está em andamento o relatório do POF 2007-2008, onde serão feitos estudos sobre o consumo efetivo de alimentos pela população brasileira (consumo de alimentos fora do domicílio e no domicílio) (IBGE, 2008), sendo assim possível uma estimativa mais acurada do consumo de CLA pela população do país e não apenas a disponibilidade de alimentos considerados fontes.

Cabe, ainda, enfatizar que o consumo de CLA sofre influência do tipo e da quantidade de alimento consumido pela população. No Brasil, o consumo de leite e derivados aumentou cerca de 88,5% entre os anos de 1992 e 1996, sendo que o iogurte aumentou 308% no mesmo período (COTINI, 1998) e o leite fermentado aumentou 625%, se considerar os anos de 1974 a 2003 (IBGE, 2004). Desta forma, pode-se inferir que o consumo de CLA no Brasil aumentou nos últimos anos.

Não existe um consenso sobre o consumo per capita ideal de CLA. Em extrapolação realizada a partir de experimentos com ratos, IP *et al.* (1991) estimaram que o consumo de CLA para uma pessoa de 70 Kg deveria ser de 3,5 g diários para que ocorresse redução da atividade proliferativa das células. BLANKSON *et al.* (2000), em estudo com humanos, verificaram que uma dose de 3,4 g/dia de CLA produziu redução significativa de massa gorda em indivíduos com sobrepeso ou obesidade.

Ao comparar os dados obtidos no presente estudo e as doses propostas de CLA, tem-se que o consumo do mesmo, pelo brasileiro, através do leite de vaca e derivados e da carne de bovinos, encontra-se muito aquém do preconizado para obtenção dos benefícios relatados anteriormente. Assim, não seria possível atingir as doses sugeridas de CLA nos estudos somente pela alimentação, já que o CLA está presente na gordura dos alimentos e a ingestão de gordura total da dieta aumentaria para níveis não saudáveis.

## 4 CONCLUSÃO

A estimativa da disponibilidade de CLA no Brasil, usando como alimentos-fontes o leite de vaca e seus derivados (queijo, iogurte, creme de leite, leite condensado e manteiga), além da carne de gado bovino, foi de 108 mg.g<sup>-1</sup> de gordura. Este valor é semelhante aos relatados nos estudos sobre o consumo de CLA em outros países, mas

está abaixo dos valores estimados para que o CLA exerça funções benéficas para saúde, que seria em torno de 3,5 g/dia.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKALIN, A.S.; TOKUŞOĞLU, Ö.; GÖNÇ, S.; AYCAN, Ş. Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yoghurts supplemented with fructooligosaccharide. *Int Dairy J*, v. 17, p. 1089-1095, 2007.

BAUBLITS, R.T. ; BROWN, A.H. ; POHLMAN, F.W. JR. ; RULE, D.C. ; JOHNSON, Z.B. ; ONKS, D.O. *et al.* Fatty acid and sensory characteristics of beef from three biological types of cattle grazing cool-season forages supplemented with soyhulls. *Meat Sci*, v. 72, p. 100-107, 2007.

BECKER, W. Comparability of household and individual food consumption data - evidence from Sweden. *Public Health Nutr*, v.4. p.1177-1182, 2001.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J Nutr*, v. 130, p.2943-2948, 2000.

COOK, M. E.; MILLER, C. C.; PARK, Y.; PARIZA, M. W. Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. *Poltry Sci*, v. 72, p.1301-1305, 1993.

COTINI, E. Tendências recentes no consume de alimentos processados no Brasil. *Rev Pol Agr*, ano VIII, n.03, 1998.

DHIMAN, T.R.; PARIZA, M.W.; GALLI, M.P. Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J Dairy Sci*, v. 82, n. 2, p. 412-419, 1999.

EVANS, M.E.; BROWN, J.M.; McINTOSH, M.K. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J Nutr Biochem*, v.13, p.508-516, 2002.

FRANCO, G. *Tabela de Composição dos Alimentos*. 9.ed. São Paulo: Atheneu, 1996, p. 232-237.

FRITSCHÉ J, STEINHART H. Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A*, v. 206, p.77-82, 1998.

GAULLIER, J. M.; HALSE, J.; HØYE, K.; KRISTIANSEN, K.; FARGENTUN, H.; VIK, H.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 year reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am J Clin Nut*, v. 79, p. 1118-1125, 2004.

HERBEL, B.K.; McGUIRE, M.K.; McGUIRE, M.A.; SHULTZ, T.D. Safflower oil consumption does not increase plasma conjugated linoleic acid concentrations in humans. *Am J Clin Nut*, v. 67, p. 332-337, 1998.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – PESQUISA DE ORÇAMENTO FAMILIAR (POF) 2002/2003 - Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional no Brasil, 2004.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Apresentação da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2007-2008. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/sipd/segundo\\_apres\\_pof07.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/sipd/segundo_apres_pof07.shtm). Acesso em 01/07/2008.

IP, C.; CHIN, S. F.; SCIMECA, J. A.; PARIZA, M. W. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res*, v. 51, p.6118-6124, 1991.

ISMAIL, A.K.M.; HERZALLAH, S.M.; HUMIED, D.M.A. Effect of processing and storage of Jameed on conjugated linoleic acid content and fat and cholesterol oxidation. *Leben Wiss Technol*, v. 40, p. 454–459, 2007.

JIANG, J.; WOLK, A.; VESSBY, B. Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue, *Am J Clin Nutr*, v. 70, p. 21–27, 1999.

LUNA, P.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A. Conjugated linoleic acid content and isomer distribution during ripening in three varieties of cheeses protected with designation of origin. *Food Chem*, v. 103, p. 1465–1472, 2007.

MA, D.; WIERZBICKI, A.; FIELD, C.; CLANDININ, M. T. Conjugated linoleic acid in Canadian dairy and beef products. *J Agri Food Chem*. v. 47, p.1956-1960, 2002.

MORATO, P.N.; SILVA, M.V. Micronutrientes com função antioxidante e compostos disponíveis nos domicílios das famílias brasileiras. *Nutrire*, v.33, p.43-59, 2008.

NEPA-UNICAMP. *Tabela brasileira de composição de alimentos*. Editora Unicamp, 2006, 105p.

NIEUWENHOVE, V.C.P.; OLISZEWSKI, R.; GONZÁLEZ, S.N.; PÉREZ-CHAIA, A.B. Conjugated linoleic acid conversion by dairy bacteria cultured in MRS broth and buffalo milk. *Letters Appl Microbiol*, v. 44, n. 5, p. 467-474, 2007.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. L; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.; PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, v. 31, p.853-858, 1997.

PRANDINI, A.; SIGOLO, S.; TANSINI, G.; BROGNA, N.; PIVA, G. Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. *J Food Comp Anal*, doi:10.1016/j.jfca.2007.03.001, 2007.

RAINER, L.; HEISS, C. J. Conjugated linoleic acid: health implications and effects on body composition. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 104, p.963-968, 2004.

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. *Int J Obesity*, v.25, p.1129-1135, 2001.

RITZENTHALER, K.L.; McGUIRE, M.K.; FALEN, R.; SHULTZ, T.D.; DASGUPTA, N.; McGUIRE, M.A. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary

assessment underestimates actual intake by food duplicate methodology. *J Nutr*, v. 131, p. 1548-1554, 2001.

SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R.P.; BRANDÃO, S.C.C.; VARGAS, L.H.; ABREU, L.R. Efeito da suplementação de lipídios na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. *Rev Bras Zootec*, v. 30, p. 1931-1938, 2001.

SHANTHA, N.C.; CRUM, A.D.; DECKER, E.A. Evaluation of conjugated linoleic acid concentrations in cooked beef. *J Agri Food Chem*, v. 42, p. 1757–1760, 1994.

SHER, J.; PRONCZUK, A.; HAJRI, T.; HAYES, K. C. Dietary conjugated linoleic acid lowers plasma cholesterol during cholesterol supplementation, but accentuates the atherogenic lipid profile during the acute phase response in hamsters. *J Nut*, v. 133, p.456-460, 2003.

WHIGHAM, L.D.; O'SHEA, M.; MOHEDE, I.C.M.; WALASKI, H.P.; ATKINSON, R.L. Safety profile of conjugated linoleic acid in a 12-month trial in onese humans. *Food Chem Toxicol*, v.42, p. 1701-1709, 2004.

## CAPÍTULO II

# AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO EM BEBIDA LÁCTEA SABOR CHOCOLATE

## RESUMO

Visando o desenvolvimento laboratorial de uma bebida láctea sabor chocolate, adicionada de ácido linoléico conjugado (CLA), foi realizado, neste trabalho, um estudo sobre a incorporação deste ingrediente, relacionado à avaliação da estabilidade da emulsão. Para tal, foram testados o tipo de equipamento (liquidificador e ultraturrax) e o tempo de agitação (1, 3 e 5 min). A formulação foi preparada tomando-se como base bebidas lácteas sabor chocolate comercializadas no Brasil. Verificou-se que, para a incorporação do CLA à bebida láctea, o liquidificador doméstico, em sua menor velocidade (11.500 rpm, por 3 min), foi mais eficiente que o ultraturrax (11.000 rpm, por 5 min), pois obteve-se maior estabilidade da emulsão, avaliada por inspeção visual e por microscopia ótica (MO). O tamanho das gotículas de gordura, que variou de 2,28  $\mu\text{m}$  a 11,80  $\mu\text{m}$ , foi avaliado apenas por MO, uma vez que não foi possível realizar esta medida pelo método do espalhamento de luz dinâmico, pois todas as amostras apresentaram polidispersão acima de 1,0. Após agitação manual, todas as amostras tiveram a fase oleosa novamente incorporada à fase dispersa, indicando que não ocorreu a desestabilização completa das emulsões.

**Palavras-chave:** CLA, bebida láctea, estabilidade de emulsões.



## 1 INTRODUÇÃO

O uso de alimentos como veículo de promoção do bem-estar e saúde e, ao mesmo tempo, como redutor dos riscos de algumas doenças, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos alimentícios e a criação de novos nichos de mercado (MATSUBARA, 2001).

Uma nova tendência da indústria de laticínios é a produção de alimentos com propriedades funcionais (bebidas lácteas, iogurtes e leites fermentados), devido a sua grande aceitação pelo público em geral, além de apresentarem elevado valor nutricional (ANTUNES *et al.*, 2007).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas (BRASIL, 1999) especifica que bebida láctea é o produto obtido, a partir de leite ou leite reconstituído e/ou derivados de leite, fermentado ou não, com ou sem adição de outros ingredientes, onde a base láctea represente pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto.

O ácido linoléico conjugado (conjugated linoleic acid - CLA) refere-se a uma mistura de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico com duplas ligações conjugadas e desempenha várias funções no organismo, podendo apresentar efeitos anticarcinogênicos (IP, 1997), agir no controle da diabetes, melhorar a resposta imunológica (WONG *et al.*, 1998), atuar no metabolismo ósseo (WATKINS *et al.*, 1997), diminuir os níveis da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e atenuar o desenvolvimento da arteriosclerose (LEE *et al.*, 1994; NICOLOSI *et al.*, 1997). Além disso, o CLA atua como repartidor de nutrientes, diminuindo a deposição de gordura e aumentando a massa corporal (PARK *et al.*, 1997; OSTROWSKA *et al.*, 1999; BLANKSON *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; GAULLIER *et al.*, 2004).

Apesar do desenvolvimento de produtos alimentícios enriquecidos com CLA já ter sido iniciado em alguns países, como Espanha, Canadá e Estados Unidos (SMEDMAN & VESSBY, 2001), não foi confirmado a existência destes produtos no mercado brasileiro.

Por ser um óleo, a adição do CLA a uma bebida láctea requer tecnologia adequada para que a sua incorporação não desestabilize a emulsão, que é um sistema heterogêneo, constituído por pelo menos um líquido imiscível, intimamente disperso num outro líquido sob a forma de gotículas ou glóbulos, cujo diâmetro, em geral excede

0,1  $\mu\text{m}$ . Estes sistemas são instáveis, podendo ocorrer separação das fases a qualquer momento (McCLEMENTS, 1999).

Desta forma, o objetivo deste trabalho consistiu em desenvolver uma bebida láctea sabor chocolate contendo CLA, avaliando-se a incorporação deste composto, com ênfase no estudo da estabilidade da emulsão.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

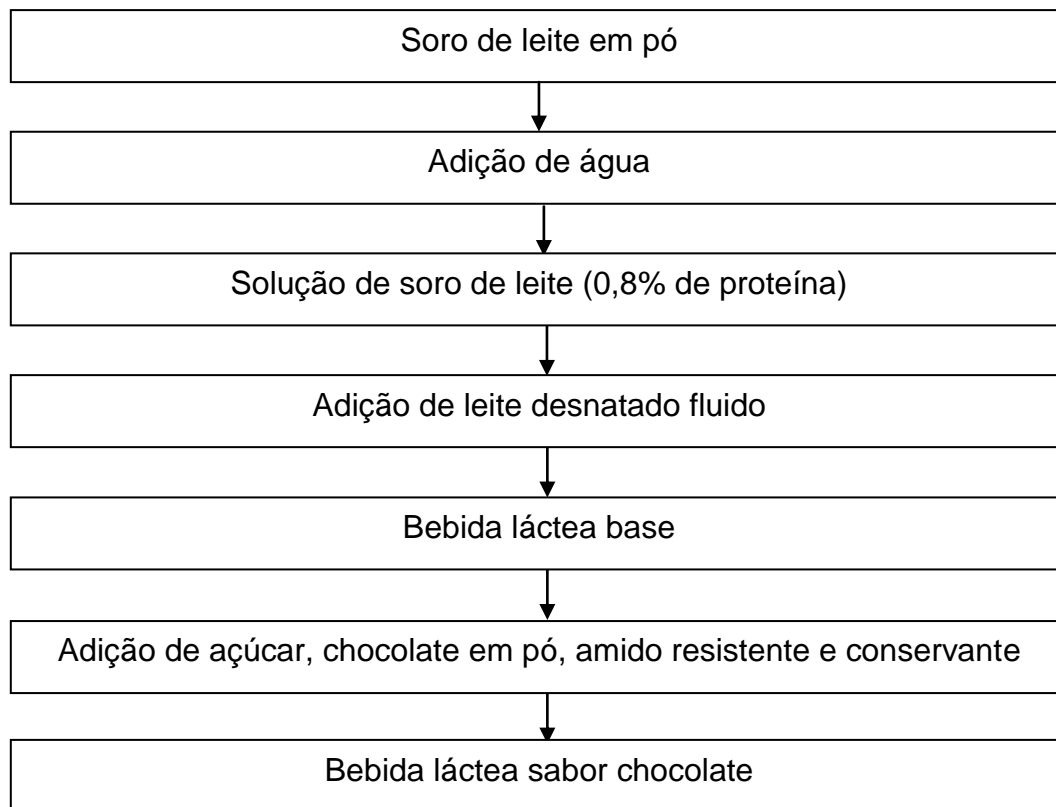
### **2.1 MATERIAL**

Para a produção da bebida láctea foi usado leite desnatado fluido, açúcar e chocolate em pó, adquiridos em supermercado de Belo Horizonte – MG; soro de leite em pó Kerrylac 700 doado pela Kerry do Brasil Ltda (Três Corações, Brasil); amido resistente, fornecido pela Refinações de Milho Brasil LTDA (Guaranhuns, Brasil); sorbato de potássio, adquirido da Plury Química LTDA (Diadema, Brasil) e ácido linoléico conjugado (CLA) na forma oleosa (Clarinol<sup>®</sup> G 80, contendo 80% de CLA), gentilmente fornecido pela Lipid Nutrition (Wormerveer, Holanda). O corante Sudan III foi adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Para a agitação, foram usados o ultraturrax (Ika Labortachnik, Staufen, Alemanha) e o liquidificador doméstico (Arno, Magiclean, São Paulo, Brasil). Para avaliar a estabilidade das formulações foi usado o equipamento Zetasizer 3000 Hs (Malvern Instruments Ltda, Worcestershire, Reino Unido), e a câmera fotográfica digital Q-Color 3 acoplada a um microscópio BX-41, ambos da Olympus (Tóquio, Japão). Para a análise das imagens, foi usado o software Image-Pro Express da Media Cybernetics (Bethesda, Estados Unidos).

### **2.2 MÉTODOS**

#### **2.2.1 Preparo da bebida láctea sabor chocolate**

Na Figura II.1 está apresentado o fluxograma de preparo da bebida láctea sabor chocolate.



**Figura II.1** – Fluxograma de preparo da bebida láctea sabor chocolate.

Inicialmente, o soro de leite em pó foi diluído em água destilada para obter 0,8% de proteína. Em seguida, adicionou-se a este soro diluído o leite desnatado fluido (70%), originando uma bebida láctea base. A esta bebida adicionou-se açúcar (10%), chocolate em pó (7%), amido resistente (2%) e conservante sorbato de potássio (0,45%), formando, assim, a bebida láctea sabor chocolate.

### **2.2.2 Avaliação da incorporação do CLA à bebida láctea sabor chocolate**

A incorporação do CLA à bebida láctea sabor chocolate foi avaliada por meio da verificação da estabilidade da emulsão, através da inspeção visual e da determinação do tamanho das gotículas de gordura. Para estas metodologias, o corante Sudan III foi acrescentado em 5g de Clarinol<sup>®</sup> G 80 (CLA na forma oleosa) e esta mistura foi, então, adicionada a 200 mL da bebida láctea sabor chocolate. Seguiu-se a agitação por 1, 3 ou 5 min no ultraturrax, na velocidade de 11.000 rpm, ou no liquidificador, na velocidade 1 (11.500 rpm), conforme a Tabela II.1. Em seguida, as amostras foram transferidas

para um erlemeyer de 250 mL, e mantidas em repouso à temperatura ambiente por até 2h.

**Tabela II.1** – Velocidade de agitação para o preparo da bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA.

Tratamento	Tempo de agitação (min)	Equipamento
U1	1	Ultraturrax (11.000 rpm)
U3	3	
U5	5	
L1	1	Liquificador (Velocidade 1, 11.500 rpm)
L3	3	
L5	5	

U1, U3 e U5 = agitação em ultraturrax por 1, 3 e 5 min, respectivamente; L1, L3 e L5 = agitação em liquidificador por 1, 3 e 5 min, respectivamente.

### 2.2.2.1 Inspeção visual

A avaliação da estabilidade da bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA (BECLA), pela inspeção visual, foi conduzida através da observação da separação das fases nos intervalos de 30, 60, 90 e 120 min, após agitação, como descrito no item anterior.

### 2.2.2.2 Determinação do tamanho das gotículas de gordura

O tamanho das gotículas de gordura da emulsão foi avaliado por meio de dois métodos: observação microscópica e análise por espalhamento de luz dinâmico (dynamic light scattering - DLS), de acordo com os métodos descritos por LOBO (2005). Estas medidas foram feitas nas amostras, que ficaram em repouso por 2 h, após agitação em liquidificador ou ultraturrax (Tabela 1). Foram coletadas alíquotas do topo, da base e das laterais do erlemeyer.

Para a observação microscópica, uma gota de cada amostra foi disposta sobre uma lâmina de vidro, posicionando a lamínula delicadamente sobre a gota. Seguiu-se a observação em aumento de 40 X em microscópio ótico, imediatamente após o preparo da lâmina, para evitar o ressecamento. As imagens coletadas foram transferidas para um computador onde as medidas dos diâmetros foram obtidas com o analisador de imagens.

Na análise por DLS, um volume de 3 mL de cada amostra foi diluído em água destilada (1:500) e colocado em uma cubeta de acrílico para leitura no equipamento.

### **3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Todos os experimentos foram avaliados através da Análise de Variância (ANOVA fator único) e o Teste de Duncan a 5 % de probabilidade foi usado para verificar a diferença entre as médias encontradas (PIMENTEL-GOMES, 2000).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Incorporação do CLA à bebida láctea**

A incorporação adequada de CLA à bebida láctea é importante, uma vez que, de acordo com ANTUNES (2004) uma distribuição não uniforme de glóbulos de gordura na fase dispersa pode levar a uma concentração de substâncias na camada superior do sistema, o que é indesejável, influenciando negativamente na aparência e qualidade da bebida. Por esta razão, buscou-se, neste trabalho, verificar a incorporação do CLA na bebida láctea achocolatada, cujos resultados estão descritos abaixo.

#### **4.1.1 Inspeção visual**

O método da inspeção visual baseia-se no fato de que o corante Sudan III, por ser lipossolúvel, mistura-se ao CLA e à gordura do leite. Desta forma, quando as fases oleosa e aquosa se separam, a camada de gordura fica com uma cor mais intensa, o que possibilita observar a sua separação da fase aquosa.

Para esta análise optou-se por utilizar um tempo máximo de repouso de 2h, para evitar a contaminação microbiana das amostras, visto que as formulações não foram submetidas a qualquer tratamento térmico.

Os resultados da separação das fases nas amostras de bebidas lácteas achocolatadas adicionadas de CLA, estão apresentados na Tabela II.2. Observa-se que

as amostras da bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA (BECLA) agitadas no ultraturrax, a 11.000 rpm, tiveram o início da separação das fases com 30 min (U1) ou 60 min (U3 e U5), indicando que este equipamento, nesta rotação, não foi capaz de incorporar o CLA à esta bebida com eficiência. Entre as amostras preparadas no liquidificador (velocidade 1, 11.500 rpm), mesmo a agitada por 1 min teve o início da separação das fases apenas após 60 min de repouso. As demais, agitadas por 3 min e 5 min, só se desestabilizaram após 120 min de repouso, indicando que o liquidificador foi mais eficiente que o ultraturrax para a incorporação do CLA a esta bebida. Por outro lado, é importante ressaltar que, após agitação manual, todas as amostras tiveram a fase oleosa novamente incorporada à fase dispersa, indicando que não houve a desestabilização completa das emulsões.

**Tabela II.2** – Inspeção visual das amostras de bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA.

Tratamentos	Tempo de repouso <sup>1</sup>	Separação das fases
U1	0	Não
	30	Início da separação
	60	Sim
	120	Sim
U3	0	Não
	30	Não
	60	Início da separação
	120	Sim
U5	0	Não
	30	Não
	60	Início da separação
	120	Sim
L1	0	Não
	30	Não
	60	Início da separação
	120	Sim
L3	0	Não
	30	Não
	60	Não
	120	Início da separação
L5	0	Não
	30	Não
	60	Não
	120	Início da separação

<sup>1</sup>Tempo de repouso = tempo de repouso após a agitação em liquidificador ou ultraturrax. U1, U3 e U5 = agitação em ultraturrax por 1, 3 e 5 min, respectivamente; L1, L3 e L5 = agitação em liquidificador por 1, 3 e 5 min, respectivamente.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que avaliaram a estabilidade de bebidas lácteas não fermentadas pela inspeção visual. Por outro lado, este método vem sendo usado por alguns autores para avaliar a estabilidade de formulações parenterais, que também são emulsões óleo em água, onde a fase oleosa consiste basicamente em óleo de soja (SHAUFF & MOFFETT, 1990; DRISCOLL, 1995, ASPEN, 1998; LOBO, 2005). Nestes trabalhos, não foi observada a separação de fases das amostras pelo método da inspeção visual, após 24 h de repouso. Na verdade, espera-se que estas formulações sejam mais estáveis que as bebidas lácteas, pois o diâmetro das suas gotículas de gordura é bem menor, situando-se no nível dos quilomícrons, que fica entre 0,4  $\mu\text{m}$  e 1  $\mu\text{m}$  (SFORZINI *et al.*, 2001). Nestas formulações, o tamanho destas gotículas deve ser pequeno, pois a presença na circulação de gotículas com diâmetro entre 4  $\mu\text{m}$  e 9  $\mu\text{m}$ , pode causar hipotensão, acidose e embolia pulmonar, podendo levar ao óbito (GUYTON, 1991; DEITEL, 1995).

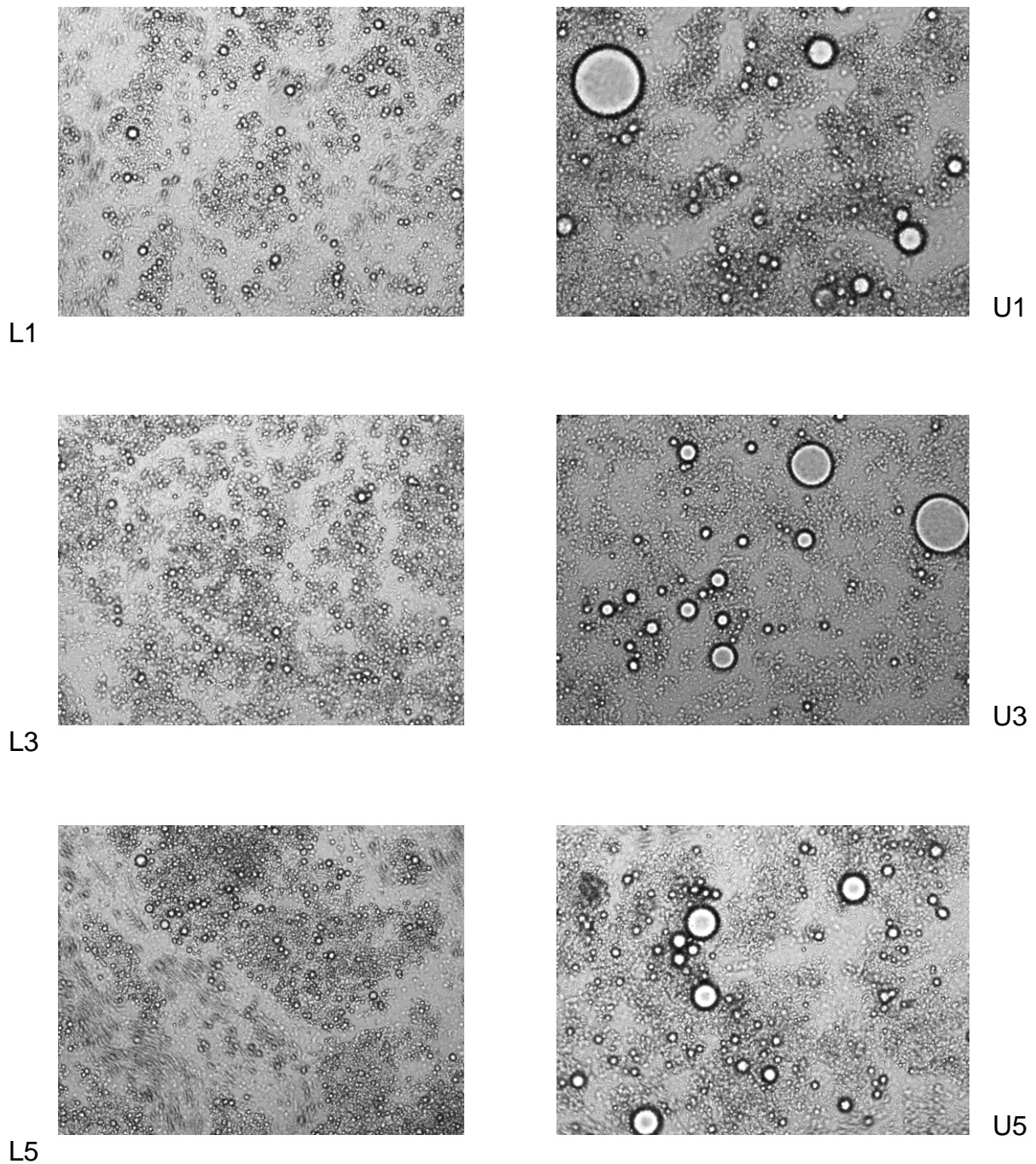
#### 4.1.2 Tamanho das gotículas de gordura

Com o auxílio do microscópio ótico, foi possível obter informações sobre a distribuição espacial e o tamanho das gotículas de gordura nas bebidas, além da distinção entre flocculação e coalescência (Figura II.2). Da mesma maneira, foi possível observar o movimento browniano.

Observa-se, portanto, na Figura II.2, que as amostras agitadas em liquidificador por 1 min (L1), 3 min (L3) e 5 min (L5) apresentaram tanto coalescência (gotículas de gordura maiores) quanto flocculação (gotículas de gorduras menores, muito próximas umas das outras) (McCLEMENTS, 1999). Entretanto, a flocculação foi maior nas amostras agitadas por 3 min e 5 min, indicando que o tempo de agitação reduz as gotículas de gordura e, por isto, pode influenciar na incorporação do CLA à BECLA. Ainda, pela análise da Figura II.2, pode-se observar que as amostras agitadas em ultraturrax por 1 min (U1), 3 min (U3) e 5 min (U5), também apresentaram flocculação e coalescência, porém estas características aparecem em maior grau nestas amostras, indicando a obtenção de um sistema menos estável do que o obtido pelo emprego do liquidificador.

Pela análise das amostras no microscópio ótico, foi possível observar um maior movimento browniano nas amostras agitadas no liquidificador do que nas amostras

agitadas no ultraturrax. Apesar deste movimento possibilitar a fusão das gotículas de gordura pela colisão, os glóbulos de gordura menores (amostras agitadas no liquidificador) ficam mais dispersos e demoram mais tempo para migrar para a parte superior da emulsão, indicando uma melhor estabilidade deste sistema (McCLEMENTS, 1999).



**Figura II.2** – Fotomicrografias das amostras de BECLA agitadas em liquidificador por 1 min (L1), 3 min (L3) e 5 min (L5); e agitadas em ultraturrax por 1 min (U1), 3 min (U3) e 5 min (U5). As análises foram feitas após duas horas de repouso, para ambos os procedimentos.



Entre os ingredientes da bebida láctea desenvolvida neste trabalho, encontra-se o amido resistente, que funciona como um estabilizante, aumentando a viscosidade da fase dispersa, o que dificulta a movimentação das gotículas de gordura e, portanto, a separação das fases (McCLEMENTS, 1999). Este fato poderia explicar a razão de que, mesmo após 120 min de repouso, a bebida láctea adicionada de CLA não se desestabilizou completamente, tanto a preparada no liquidificador quanto no ultraturrax.

Não foram encontrados na literatura relatos sobre a estabilidade de bebidas lácteas por observação no microscópio ótico.

A análise no microscópio ótico possibilitou, igualmente, determinar as medidas dos diâmetros das gotículas de gordura das amostras de BECLA, agitadas em liquidificador ou ultraturrax, que foram obtidas com o auxílio de um analisador de imagens (Tabela II.3).

**Tabela II.3** - Tamanho das gotículas de gordura das amostras de BECLA agitadas em liquidificador ou em ultraturrax.

	Amostras <sup>1</sup>					
	L1	L3	L5	U1	U3	U5
Menor gotícula (µm)	4,36	2,80	2,28	7,41	7,76	6,74
Maior gotícula (µm)	9,90	6,16	5,25	11,80	12,23	10,02
Média <sup>2</sup> (µm)	6,06 <sup>b</sup> ±1,81	4,37 <sup>c</sup> ±0,89	3,88 <sup>c</sup> ±0,87	9,51 <sup>a</sup> ±1,31	9,78 <sup>a</sup> ±1,43	7,87 <sup>a</sup> ±1,00

<sup>1</sup> Amostras de bebida láctea adicionadas de CLA agitadas em liquidificador por 1 min (L1), 3 min (L3) e por 5 min (L5), e em ultraturrax por 1 min (U1), 3 min (U3) e por 5 min (U5). <sup>2</sup> Média do tamanho de 12 gotículas de gordura ± desvio padrão. Valores seguidos pelas mesmas letras na mesma linha não diferem entre si a 5% de probabilidade.

Observa-se, nesta Tabela que, nas amostras de BECLA agitadas em liquidificador, o tamanho das gotículas de gordura variou de 2,28 µm a 9,90 µm, enquanto que nas agitadas em ultraturrax foi maior, indo de 6,74 µm a 12,23 µm. Este resultado indica que o uso do liquidificador foi mais eficiente para a incorporação do CLA à bebida láctea achocolatada, já que os glóbulos de gordura menores demoram mais tempo para migrar para a parte superior da emulsão (McCLEMENTS, 1999). Pode-se observar, ainda, que não houve diferença estatística entre as amostras agitadas por 3 e 5 min no liquidificador (L1 e L3).

Não foram encontrados na literatura estudos que abordaram a avaliação do tamanho das gotículas de gordura em bebidas lácteas. Assim, os resultados aqui encontrados foram comparados com os obtidos para o leite e para soluções parenterais industriais. Assim, MA & BARBANO (2000) encontraram gotículas de gordura com o tamanho variando de 1  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$ , em leite bovino cru integral, faixa esta semelhante à encontrada neste trabalho (de 2,28  $\mu\text{m}$  a 12,23  $\mu\text{m}$ ). Esta similaridade poderia ser explicada pelo fato de que o leite, assim como a BECLA, é uma emulsão óleo em água representando, portanto, características próximas à BECLA. É importante ressaltar que estes autores usaram uma metodologia diferente, uma vez que a medição do tamanho das gotículas de gordura foi feita pelo equipamento “laser light-scattering”.

Quanto às soluções parenterais industriais, que também são emulsão óleo em água, porém que passaram por processo de esterilização e homogeneização, alguns autores encontraram diâmetros das gotículas de gordura variando de 0,45  $\mu\text{m}$  a 1,15  $\mu\text{m}$  nas formulações de nutrição parenteral, valores estes muito inferiores aos encontrados nas bebidas lácteas desenvolvidas neste trabalho (SHAUFF & MOFFETT, 1990; DRISCOLL, 1995, ASPEN, 1998; LOBO, 2005). As formulações de nutrição parenteral devem ter o diâmetro das gotículas de gordura controlado, pois além das complicações que podem ocorrer na saúde do paciente que recebe uma dieta com glóbulos de gordura de diâmetro superior a 4  $\mu\text{m}$ , como hipotensão, acidose e embolia pulmonar (GUYTON, 1991; DEITEL, 1995), as emulsões lipídicas intravenosas mostram-se farmacologicamente instáveis, quando o percentual de glóbulos de gordura maiores que 5  $\mu\text{m}$  excede 0,4% do total de lipídios presentes (DRISCOLL *et al.*, 1995, 2000, 2005; USP PHARM FORUM, 2004).

Com relação aos resultados obtidos pelo método do DLS, todas as amostras apresentaram polidispersão acima de 1,0. Considerando que, para que seja garantida a eficácia e a confiabilidade das análises, é necessário que este valor seja inferior a 0,7 (MALVERN INSTRUMENTS, 2000), os resultados tiveram que ser descartados.

## 5 CONCLUSÃO

O liquidificador doméstico (velocidade 1, 11.500 rpm, por 3 min) foi mais eficiente que o ultraturrax (11.000 rpm, por 5 min) na incorporação de CLA a uma bebida láctea sabor chocolate, pois obteve-se maior estabilidade da emulsão, avaliada por inspeção visual e por microscopia ótica. A análise da bebida láctea no microscópio ótico mostrou, ainda, que o tamanho das gotículas de gordura variou de 2,28  $\mu\text{m}$  a 12,23  $\mu\text{m}$ .

## 6 REFERÊNCIAS

ANTUNES, A. E. C.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; DOURADO, F. M.; RODRIGUES, L. G.; LERAYER, A. L. S. Desenvolvimento de buttermilk probiótico. *Ciênc. Technol. Aliment.*, Campinas, 27(1): 83-90, jan.-mar. 2007.

ANTUNES, M. S. Estudo à microscopia eletrônica da estabilidade física de emulsões lipídicas em soluções nutritivas parenterais. *Rev. Bras. Farm.*, v.85(3), p.: 121-127, 2004.

ASPEN.: National Advisory Group on Standards and Practice Guidelines for Parenteral Nutrition. Safe Practices for Parenteral Nutrition Formulations. *JPEN* 22(2): 49-65, 1998.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *Journal of Nutrition*, v. 130, p.2943-2948, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 57 de 08 de dezembro de 1999. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. DAS/SIPOA, 1999.

DEITEL, M, FRIEDMAN K. L., CUNNANE, S, LEA, P. J., *et al.* Emulsion stability in a total nutriente admixture for total parenteral nutrition. *J Pharm Biomed Anal*, v. 13, n. 10, p. 1283-1289, 1995.

DRISCOLL, D.F. Total Nutrient Admixtures: theory and Practice. *Nutr. In Clin.Pract*, v. 10, p. 114-119, 1995.

DRISCOLL, DF, BACON, MN, BISTRIAN, BR. Physicochemical stability of two types of intravenous lipid emulsion as total nutrient admixtures. *J Parent Enteral Nutr.* v. 24, n. 1, p. 15-22, 2000.

DRISCOLL, D.F. Stability and compatibility assessment techniques for total parenteral nutrition admixtures: setting the bar according to pharmacopeial standards. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, v. 8, n. 3, p. 291-295, 2005.

GAULLIER, J. M.; HALSE, J.; HØYE, K.; KRISTIANSEN, K.; FARGENTUN, H.; VIK, H.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 year reduces body fat mass in healthy overweight humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, p. 1118-1125, 2004.

GUYTON, A.C., The microcirculation and the lymphatic system: capillary fluid exchange, interstitial fluid and lymph flow. In: Guyton AC. (Ed.) textbook of Medical Physiology. Saunders, Phyladelphia, PA, 1991.

IP, C.; JIANG, C.; THOMPSON, H. J.; SCIMECA, J. A. Retention of conjugated linoleic acid in the mammary gland is associated with tumor inhibition during the post – initiation phase of carcinogenesis. *Carcinogenesis*, v. 18, p.755-759, 1997.

LEE, K.N.; KRITCHEVSKY, D.; PARIZA, M.W. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, v. 108, p. 19-25, 1994.

LOBO, B. W. P. Avaliação da estabilidade físico-química de misturas totais de nutrientes para uso intra-venoso neonatal. Dissertação de mestrado apresentado ao programa de pos-graduação em ciências farmacêuticas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005, p.138.

MA, Y.; BARBANO, D.M. Gravity separation of raw bovine milk: fat globule size distribution and fat content of milk fractions. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.1719-1727, 2000.

MATSUBARA, S. Alimentos Funcionais: Uma tendência que abre perspectivas aos laticínios, *Revista Laticínios*, v. 6 (34), 2001.

MALVERN INSTRUMENTS, Principles of Operation – manual do equipamento Zetasizer 3000, sem data.

McCLEMENTS, D.J. Food emulsions: principles, practice and techniques. CRC Press, U.S., 1999. 379p.

NICOLOSI, R.J.; ROGERS, E.J.; KRITCHEVSKY, D.; SCIMECA, J.A.; HUTH, P.J. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery*, v. 22, p. 266-277, 1997.

OSTROWSKA, E.; MURALITHARAN, M.; CROSS, R. F.; BAUMAN, D. E.; DUNSHEA, F. R. Dietary conjugated linoleic acid increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *Journal of Nutrition*, v.129, p.2037-2042, 1999.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. L.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.; PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, v. 31, p.853-858, 1997.

PIMENTEL-GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 14 ed. Piracicaba, 2000. 477 p.

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, p.1129-1135, 2001.

SCHAUF, C.; MOFFETT, D.F.; MOFFETT, S.B. *Fisiologia Humana*. Guanabara e Koogan. 2:21-22, 1990.

SFORZINI, A, BERSANI, G, STANCARI, A, GROSSI, G, BONOLI, A, CESCHEL, G.C. Analysis of all-in-one parenteral nutrition admixtures by liquid chromatography and laser diffraction: study of stability. *J Pharm and Biom. Anal*; v.24, p. 1099-1109, 2001.

SMEDMAN, A.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans - metabolic effects. *Lipids*, v. 36, p. 773-778, 2001.

USP PHARM FORUM - UNITED STATES PHARMACOPEIA. Globule Size Distribution in Lipid Injectable Emulsion. Proposed chapter, In-process revision. *Pharmacopeial Forum*: v. 30, n. 6, 2004.

WATKINS, B.A.; SHEN, C.L.; McMURTRY, J.P.; XU, H.; BAIN, S.D.; ALLEN, K.G.D.; SEIFERT, M.F. Dietary lipids modulate bone prostaglandin E2 production, insulin-like

growth factor-I concentration and formation rate in chicks, *J. Nut.*, v. 127, p. 1084-1091, 1997.

WONG, M.W.; CHEW, B.P.; WONG, T.S.; HOSICK, H.L.; BOYLSTON, T.D.; SCHULZ, T.D. Effects of dietary conjugated linoleic on lymphocyte function and growth of mammary tumors in mice. *Anticancer Res.*, v. 17, p. 987–993, 1998.

## CAPÍTULO III

# ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDAS LÁCTEAS SABOR CHOCOLATE, ADICIONADAS DE ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO E DE ÓLEO DE CANOLA

## RESUMO

Visando o desenvolvimento de formulações de bebida láctea sabor chocolate adicionadas de ácido linoléico conjugado (BECLA) e de óleo de canola (BECAN), aplicaram-se três testes sensoriais. Na primeira etapa, com o objetivo de verificar a existência de diferença sensorial entre as amostras adicionadas de ácido linoléico conjugado (CLA) ou óleo de canola, empregou-se o teste triangular com uma equipe sensorial composta de 20 voluntários orientados quanto ao uso do teste. Em uma segunda etapa, com a BECLA E BECAN, aplicou-se um teste afetivo com 66 prováveis consumidores de bebida láctea. Em uma terceira etapa, 100 voluntários avaliaram a aceitação sensorial e a intenção de compra de duas bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA, sendo uma com 1,25% (BECLA 1,25%) e outra com 2,5% (BECLA 2,5%). Em todas as etapas, os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, de acordo com critérios do comitê de ética em pesquisa da UFMG. No teste triangular, os provadores notaram a diferença entre as bebidas preparadas ( $p \leq 0,5$ ), sendo que 60% da população diferenciaram o sabor do CLA. No teste de aceitação, a bebida láctea adicionada de canola foi preferida àquela contendo CLA. Contudo, 53% dos entrevistados afirmaram o interesse em aumentar o consumo de um produto lácteo que auxiliasse na redução de peso. No teste sensorial de aceitação aplicado na terceira etapa, a BECLA 1,25% foi preferida em relação à BECLA 2,5%. Não houve diferença estatística entre as bebidas quanto à intenção de compra realizada junto à avaliação sensorial. Além disso, a avaliação deste parâmetro quase dobrou, passando de 16 para 31% para o ponto “certamente eu compraria”, quando os voluntários foram informados que a bebida adicionada de CLA poderia auxiliar na redução do peso corporal.

**Palavras-chave:** ácido linoléico conjugado, óleo de canola, bebida láctea, avaliação sensorial, aceitação.

## 1 INTRODUÇÃO

De maneira geral, as “bebidas lácteas” englobam uma série de produtos fabricados com leite e soro. Bebida láctea é o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, Ultra Alta Temperatura (UAT), reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado ou em pó) adicionado ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância alimentícia, gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea deve representar pelo menos 51% massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto. As bebidas lácteas podem conter em sua formulação, além do soro, do leite e dos cultivos de bactérias lácticas já tradicionais, acidulantes, aromatizantes, reguladores de acidez, estabilizantes, espessantes, emulsificantes, corantes, conservantes, pedaços, polpa ou sucos de frutas e mel (BRASIL, 1999).

O ácido linoléico conjugado (CLA) é um ácido graxo insaturado que compreende um grupo de isômeros posicionais e geométricos derivados do ácido linoléico (C18:2-6) (RISÉRUS *et al.*, 2001). A primeira observação dos benefícios à saúde do CLA foi como fator anticarcinogênico por Pariza e colaboradores na década de setenta. Outros efeitos incluem alterações na composição corporal, redução da arteriosclerose, prevenção e tratamento do diabetes *mellitus* entre outros (CHOUINARD *et al.*, 1999; WHIGHAM *et al.*, 2004).

Em relação à modulação da composição corporal de humanos, os estudos ainda são escassos e controversos, sendo que em alguns trabalhos são relatadas modificações na gordura corporal (BLANKSON *et al.*, 2000; GAULLIER *et al.*, 2004; LASO *et al.*, 2007; RAFF *et al.*, 2009), enquanto que em outros não há o relato de qualquer mudança neste parâmetro (ZAMBELL *et al.*, 2000; MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006; NAZARE *et al.*, 2007).

Neste contexto, visando a realização posterior de um experimento clínico para testar os efeitos do CLA em humanos, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver formulações de bebida láctea sabor chocolate, adicionadas de CLA e de óleo de canola, para compor os grupos teste e placebo, com ênfase no estudo da sua aceitação e da intenção de compra, no intuito de selecionar uma formulação final com as melhores características sensoriais.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 MATERIAL**

Para a produção da bebida láctea foi usado leite desnatado fluido, açúcar, chocolate em pó e óleo de canola, adquiridos no comércio de Belo Horizonte – MG; soro de leite em pó Kerrylac 700 doado pela Kerry do Brasil Ltda (Três Corações, Brasil); amido resistente, fornecido pela Refinações de Milho Brasil LTDA (Guaranhuns, Brasil); sorbato de potássio, adquirido da Plury Química LTDA (Diadema, Brasil) e ácido linoléico conjugado na forma oleosa (Clarinol<sup>®</sup> G 80), gentilmente fornecido pela Lipid Nutrition (Wormerveer, Holanda). Para a incorporação do CLA à bebida láctea sabor chocolate foi utilizado um liquidificador doméstico (Magiclean, Arno S.A, São Paulo, Brasil).

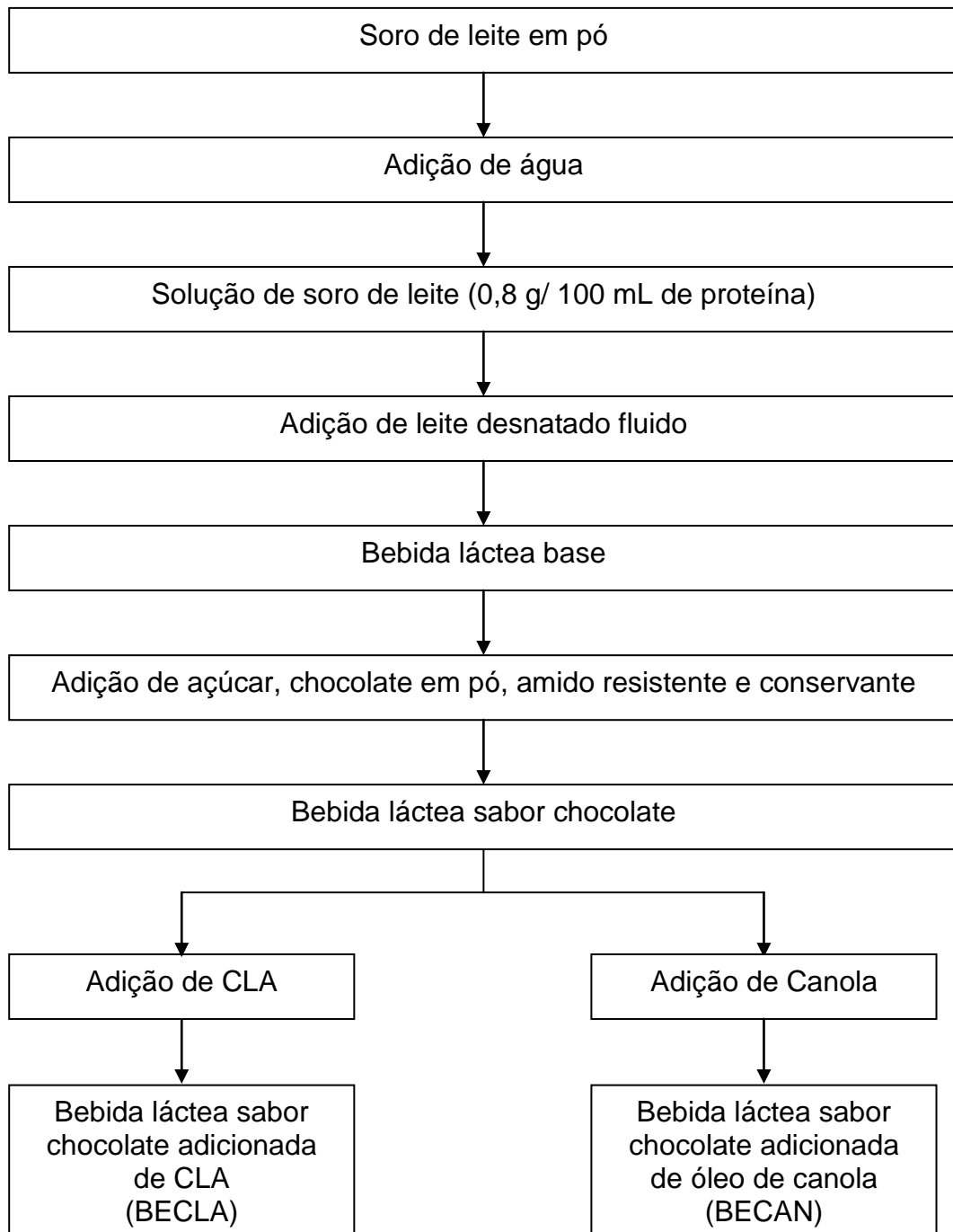
### **2.2 MÉTODOS**

#### **2.2.1 Preparo das bebidas lácteas**

Inicialmente o soro de leite em pó foi diluído em água destilada para obter 0,8 g/ 100 mL de proteína. Em seguida, adicionou-se a este soro diluído o leite desnatado fluido (70%), originando uma bebida láctea base. A esta bebida adicionou-se açúcar (10%), chocolate em pó (7%), amido resistente (2%) e conservante sorbato de potássio (0,45%), formando, assim, a bebida láctea sabor chocolate.

Para a primeira e segunda etapas, 5g de CLA ou canola foi adicionado à 200 mL da bebida láctea sabor chocolate e seguiu-se a agitação em liquidificador por 3 min. Para a terceira etapa, adicionou-se 2,5g ou 5g de CLA à 200 mL da bebida láctea sabor chocolate, chegando-se a uma concentração de 1,25% ou 2,5%, respectivamente. Seguiu-se a agitação em liquidificador por 3 min. Na Figura III.1 está apresentado o fluxograma do preparo das bebidas.





**Figura III.1** – Fluxograma de preparo das bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA (BECLA) ou de Canola (BECAN).

## 2.2.2 Análise Sensorial das bebidas lácteas

A avaliação sensorial das bebidas lácteas foi conduzida em três etapas distintas. Na primeira etapa foi aplicado o teste triangular para similaridade (MEILGAARD *et al.*, 1991) e na segunda etapa o afetivo de aceitação (STONE & SIDEL, 1993) com bebidas lácteas adicionadas de CLA (2,5%) ou óleo de canola (2,5%). Na terceira etapa foi aplicado um teste afetivo de aceitação (STONE & SIDEL, 1993) com bebidas lácteas adicionadas de duas concentrações de CLA, 1,25% e 2,5%.

Os testes foram realizados em laboratório de análise sensorial equipado com cabines individuais, empregando-se luz branca. Nas três etapas, os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, conforme orientação do comitê de ética em pesquisa da UFMG e responderam a um questionário sobre o consumo de bebidas lácteas.

### 2.2.2.1 Avaliação Sensorial

#### 2.2.2.1.1 Teste triangular para similaridade – Primeira Etapa

As amostras das bebidas lácteas (BECLA ou BECAN) foram servidas (20 mL a 10 °C) simultaneamente de forma casualizada e balanceada, de acordo com FERREIRA *et al.* (2000). Foi adotado o valor de  $\beta = 0,05\%$  e de  $p_d = 0,20$ , ou seja, espera-se assegurar, com 95% de confiança, que não mais que 20% da população possa detectar diferença entre as amostras. Os dados, ainda, foram analisados por aproximação normal do teste binomial para determinar a proporção verdadeira dos julgadores que distinguem diferenças entre as amostras dentro do intervalo de confiança mono-caudal de 95%. O ponto superior do intervalo de confiança foi calculado pela Fórmula 1. O teste foi aplicado a 20 julgadores orientados quanto ao uso do teste, com seis repetições. Os avaliadores eram, na maioria, do sexo feminino (75%) e com idade entre 18 e 35 anos (70%).

$$P_{\text{máx}(95\%)} = [1,5(xn)-0,5] + z_{\beta} [2,25(xn)(1-(xn))]/n]^{1/2} \quad (1)$$

Onde:

$x$  = número observado de respostas corretas.

$n$  = número de respostas.

$z_{\beta}$  = ponto percentual superior da distribuição de *t-Student* (tabelado) (MEILGAARD *et al.*, 1991).

#### **2.2.2.1.2 Teste afetivo de aceitação - Segunda Etapa**

Avaliou-se a aceitação global da BECLA em comparação com a BECAN por meio de um grupo de 66 consumidores potenciais de bebida láctea, não treinados, universitários, na maioria mulheres (95,45%), com idade entre 18 e 25 anos (70%), selecionados em função da disponibilidade, interesse e hábito de consumir bebidas lácteas. Foi usado uma escala hedônica de 1 a 9 pontos, em que o ponto 1 correspondia a "desgostei extremamente" e o ponto 9 a "gostei extremamente". Na mesma ficha foi incluída uma escala de intenção de compra estruturada de 5 pontos, onde 1 correspondia a "certamente compraria" e 5 "certamente não compraria". As amostras foram apresentadas de forma monádica, sequencial, utilizando-se um delineamento de blocos completos balanceados, servidas a 10 °C, em um volume de 20 mL.

#### **2.2.2.1.3 Teste afetivo de aceitação – Terceira Etapa**

Avaliou-se a aceitação global da bebida láctea adicionada de CLA (BECLA) em duas concentrações, sendo 1,25% (BECLA 1,25%) e 2,5% (BECLA 2,5%). O teste foi aplicado a um grupo de 100 consumidores potenciais de bebida láctea de uma comunidade acadêmica de um centro universitário, envolvendo estudantes, professores e funcionários. Eram, na maioria, mulheres (76%), de 18 a 25 anos (69%) e com curso superior incompleto (81%). A seleção foi realizada em função da disponibilidade, interesse e hábito de consumir bebidas lácteas. Foi usado uma escala hedônica de 1 a 9 pontos, em que o ponto 1 correspondia a "desgostei extremamente" e o ponto 9 a "gostei extremamente". Na mesma ficha foi incluída uma escala de intenção de compra estruturada de 5 pontos, onde 1 correspondia a "certamente compraria" e 5 "certamente não compraria". As amostras foram apresentadas de forma monádica, sequencial,

utilizando-se um delineamento de blocos completos balanceados. Cada amostra foi servida a 10 °C, em um volume de 20 mL.

Após o término da avaliação sensorial, foi solicitado ao voluntário que respondesse uma questão sobre a intenção de compra do produto, caso este tivesse a propriedade de auxiliar na redução do peso corporal.

### **3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados dos testes de aceitação foram avaliados por análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey, a 5% de probabilidade, foi usado para determinar a diferença entre as médias.

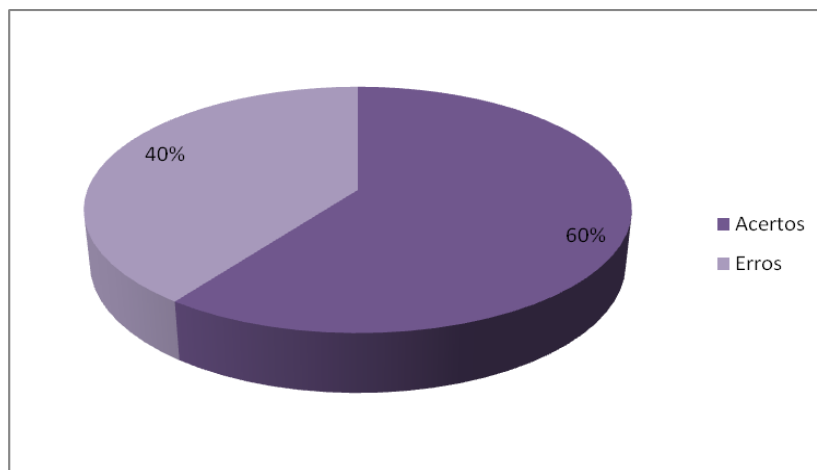
## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Teste triangular para similaridade**

Neste teste a equipe sensorial identificou diferença entre a bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA e a adicionada de canola ( $p < 0,5$ ), já que o as respostas corretas para as amostras diferentes dentro de cada arranjo foi superior ao valor máximo tabelado para os critérios adotados.

Quando os dados foram analisados por aproximação normal do teste binomial, para determinar a proporção verdadeira dos julgadores que distinguem diferenças entre as amostras dentro do intervalo de confiança monocaudal de 95%, concluiu-se que 60% da população foram capazes diferenciar o sabor do CLA, quando usado a 2,5%, em relação ao canola em bebida láctea sabor chocolate (Gráfico III.1).

Quando os participantes foram perguntados, em questionário, se aumentariam o consumo de um produto lácteo que auxiliasse na redução de peso, 55% responderam que sim, confirmando o interesse do consumidor por produtos que tragam algum benefício à saúde (BRANDÃO, 2002).



**Gráfico III.1** – Percentual da população capaz de diferenciar o sabor do CLA em relação ao óleo de canola em bebida láctea sabor chocolate, calculado por aproximação normal do teste binomial.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que usaram a análise sensorial para avaliar a semelhança entre bebidas lácteas não fermentadas adicionadas de CLA ou outros óleos. Entretanto, alguns autores usaram o teste triangular para avaliar a vida de prateleira de leites de vaca e derivados que tiveram o teor de CLA aumentado pela modificação da dieta dos animais (JONES *et al.*, 2005; LYNCH *et al.*, 2005). Nestes trabalhos, o teste triangular foi eficiente para identificar o sabor de ranço em leite e manteiga.

#### 4.2 Teste afetivo de aceitação – Segunda Etapa

Os resultados da avaliação sensorial de aceitação e de intenção de compra para as bebidas lácteas adicionadas de CLA ou óleo de canola estão apresentados na Tabela III.1. A bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA teve menor aceitação que a bebida láctea adicionada de óleo de canola ( $p < 0,05$ ).

**Tabela III.1** – Aceitação e intenção de compra das amostras de bebida láctea adicionada de CLA ou canola.

Amostra	Aceitação*	Intenção de compra*
BECAN	7,01 <sup>a</sup> ± 2,27	2,79 <sup>b</sup> ± 1,37
BECLA	4,73 <sup>b</sup> ± 2,34	3,45 <sup>a</sup> ± 1,29

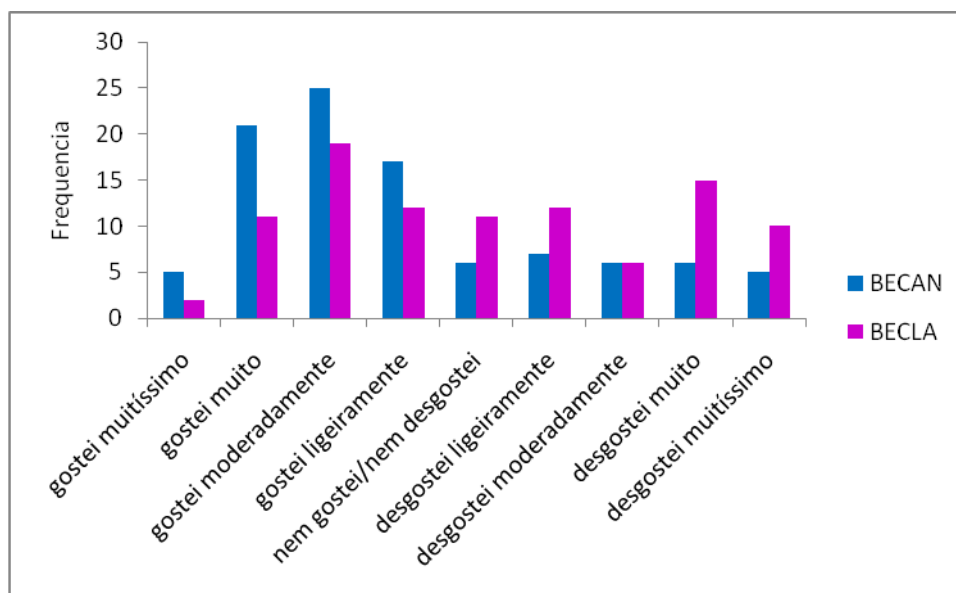
BECAN = Bebida láctea sabor chocolate adicionada de canola. BECLA = Bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA. \*Valores expressos como média ± desvio padrão. Para aceitação o valor 1 corresponde a "desgostei extremamente" e o valor 9 a "gostei extremamente". Para intenção de compra, o valor 1 corresponde a "certamente compraria" e o valor 5 corresponde a "certamente não compraria". Resultados na mesma coluna com letras sobrescritas iguais não diferem entre si estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

O fato do CLA possuir odor e sabor característicos pode explicar a maior aceitação da BECAN em relação à BECLA. RAMASWAMY *et al.* (2001), verificaram uma boa aceitação de leite de vaca com teor aumentado de CLA, por modificação da dieta do gado, que variou de 0,56 a 2,30 g de CLA por 100 g de gordura, valores muito abaixo do teor de CLA da bebida láctea preparada neste trabalho, que foi de 62 g de CLA por 100 g de gordura.

Para a intenção de compra, a bebida láctea adicionada de canola também foi preferida à bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA. Entretanto, os julgadores não foram informados sobre os benefícios para a saúde que o CLA pode proporcionar. Também nesta etapa, os potenciais consumidores da bebida foram perguntados se aumentariam o consumo de um produto lácteo que auxiliasse na redução de peso, e, 53% responderam afirmativamente. RAMASWAMY *et al.* (2001), encontraram em sua pesquisa que 56,6% dos consumidores pagariam mais por um leite com teor aumentado de CLA, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho. Entretanto, ao contrário do presente trabalho, estes autores informaram aos consumidores, antes do teste, sobre os efeitos benéficos do CLA para a saúde.

O Gráfico III.2 ilustra a frequência dos níveis de aceitação manifestados pelos provadores, com base na escala hedônica, variando de gostei muitíssimo e desgostei muitíssimo. Pode-se observar que, apesar da menor aceitação da bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA em relação à bebida adicionada de canola, as maiores frequências de manifestação para a BECLA foi para gostei moderadamente, indicando que uma reformulação desta bebida, reduzindo o teor de CLA, poderia aumentar a sua

aceitação. Na verdade, dentro da análise sensorial, os testes afetivos são realizados com a finalidade de acessar diretamente a opinião do consumidor, facilitando a detecção das características do produto que necessitam ser reformuladas (FERREIRA *et al.*, 2000; BARBOZA *et al.*, 2003).



**Gráfico III.2** – Frequências de respostas relativas à aceitação das bebidas lácteas sabor chocolate adicionada de CLA (BECLA) ou de canola (BECAN).

### 4.3 Teste afetivo de aceitação – Terceira Etapa

Levando em conta o resultado obtido no item anterior (Gráfico III.2), preparou-se uma bebida láctea sabor chocolate contendo teor reduzido de CLA (de 2,5% para 1,25%), e aplicou-se o teste de aceitação para comparar estas duas bebidas.

Os resultados deste teste estão apresentados na Tabela III.2. Observa-se que a BECLA 1,25% teve melhor aceitação que a BECLA 2,5% ( $p < 0,05$ ), indicando que, apesar dos efeitos benéficos para a saúde, do ponto de vista tecnológico a adição de CLA, na forma oleosa, deve ser feita com cautela para não interferir de forma negativa nas características sensoriais do produto e, assim, não reduzir a sua aceitação.

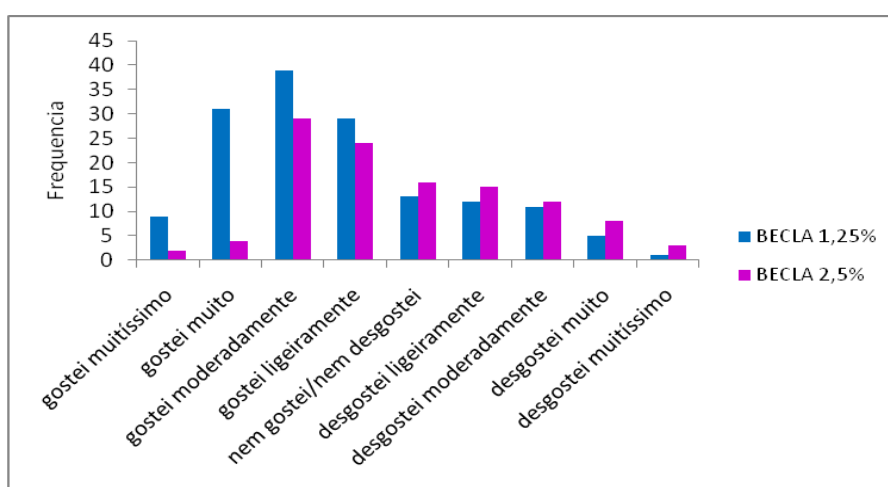
**Tabela III.2** – Aceitação e intenção de compra das amostras de bebida láctea adicionada de CLA.

Amostra	Aceitação*	Intenção de compra*
BECLA 1,25%	6,20 <sup>a</sup> ± 1,82	2,79 <sup>a</sup> ± 1,11
BECLA 2,5%	5,78 <sup>b</sup> ± 1,90	3,04 <sup>a</sup> ± 1,21

BECLA 1,25% = Bebida láctea sabor chocolate adicionada de 1,25% de CLA. BECLA 2,5% = Bebida láctea sabor chocolate adicionada de 2,5% de CLA. \*Valores expressos como média ± desvio padrão. Para aceitação o valor 1 corresponde a "desgostei extremamente" e o valor 9 a "gostei extremamente". Para intenção de compra, o valor 1 corresponde a "certamente compraria" e o valor 5 corresponde a "certamente não compraria". Resultados na mesma coluna com letras sobrescritas iguais não diferem entre si estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

Não foram encontrados na literatura dados sobre a aceitação de bebidas lácteas adicionadas de CLA. Por outro lado, RAMASWAMY *et al.* (2001), verificaram uma boa aceitação de leite de vaca com teor aumentado de CLA, por modificação da dieta do gado, que variou de 0,56 a 2,30 g de CLA por 100 g de gordura, valores muito abaixo do teor de CLA da bebida láctea preparada neste trabalho, que variou de 31 a 62 g de CLA por 100 g de gordura.

O Gráfico III.3 ilustra a frequência dos níveis de aceitação manifestados pelos provadores, com base na escala hedônica, variando de gostei muitíssimo e desgostei muitíssimo. Pode-se observar que, apesar da menor aceitação da BECLA 2,5% em relação à BECLA 1,25%, as maiores frequências de manifestação para as duas bebidas foram para gostei moderadamente.



**Gráfico III.3** – Frequências de respostas relativas à aceitação das bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de 1,25% (BECLA 1,25%) ou de 2,5% (BECLA 2,5%) de CLA.



Para o item intenção de compra não foi observado diferença entre os resultados obtidos para estas duas bebidas (Tabela III.2). Como nas outras duas etapas, os julgadores foram perguntados se aumentariam o consumo de um produto lácteo que auxiliasse na redução de peso, e, 53% responderam que sim.

Após a finalização da avaliação sensorial, solicitou-se aos voluntários que respondessem a uma questão sobre a intenção de compra do produto, caso este tivesse a propriedade de auxiliar na redução do peso corporal. Neste momento, a avaliação deste parâmetro quase dobrou, passando de 16 para 31% no ponto “certamente eu compraria”. Este resultado está de acordo com a afirmativa de que a tendência do consumidor é de procurar produtos que melhorem a sua expectativa e qualidade de vida, dado que é confirmado pelo aumento do consumo de produtos funcionais no mundo todo (BRANDÃO, 2002).

## 5 CONCLUSÃO

A adição de 2,5% de CLA, na forma oleosa, em uma bebida láctea sabor chocolate foi percebida pela população estudada, quando aplicado o teste triangular para similaridade, sendo que a maioria da população preferiu a bebida láctea sabor chocolate adicionada de canola (BECAN) em relação à bebida adicionada de CLA (BECLA). Contudo, 53% dos entrevistados afirmaram o interesse em aumentar o consumo de um produto lácteo que auxiliasse na redução de peso. A BECLA com 1,25% de CLA teve melhor aceitação que aquela com 2,5%, mas ambas apresentaram a mesma intenção de compra. Este parâmetro duplicou após informação aos voluntários sobre o efeito do CLA na redução do peso corporal.

## 6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BARBOZA, L. M. V.; FREITAS, R. J. S.; WASZCZYNSKYJ, N. Desenvolvimento de produtos e análise sensorial. *Brasil Alimentos*, v. 18, p.34-35, 2003.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J. Nutr.*, v. 130, p.2943-2948, 2000.

BRANDÃO, S.C.C. Novas Gerações de Produtos Lácteos Funcionais. *Indústria de Laticínios*, p.64-66- JAN/FEV 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 57 de 08 de dezembro de 1999. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. DAS/SIPOA, 1999.

CHOUINARD PY, BAUMAN BA, BAUMGARD MA. An update on conjugated linoleic acid. *In: Proceedings of the Cornell Nutrition Conference Feed Manufactory*. Ithaca (NY); 1999. p.93-101.

FERREIRA, V. L. P. *Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos*. Campinas, SP: SBCTA, 2000. 127p.

GAULLIER, J. M.; HALSE, J.; HØYE, K.; KRISTIANSEN, K.; FARGENTUN, H.; VIK, H.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 year reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 79, p. 1118-1125, 2004.

JONES, E. L.; SHINGFIELD, K. J.; KOHEN, C.; JONES, A. K.; LUPOLI, B.; GRANDISON, A. S.; BEEVER, D. E.; WILLIAMS, C. M.; CALDER, P. C.; YAQOOB, P. Chemical, Physical, and Sensory Properties of Dairy Products Enriched with Conjugated Linoleic Acid. *J. Dairy Sci.*, v. 88, p.2923–2937, 2005.

LARSEN, T. M. Conjugated linoleic acid supplementation for 1y does not prevent weight or body fat regain. *Am J Clin Nutr*, v. 83, p. 606-612, 2006

LASO, N.; BRUGUÉ, E.; VIDAL, J.; 2, ROS, E.; ARNAIZ, J.A.; CARNÉ, X.; VIDAL, S.; MAS, S.; DEULOFEU, R.; LAFUENTE, A. Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid (isomers cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12) on body composition and metabolic syndrome components. *British J. Nutr.*, v. 98, p. 860–867, 2007.

LYNCH, J. M.; LOCK, A. L.; DWYER, D. A.; NOORBAKHSH, R.; BARBANO, D. M.; BAUMAN, D. E. Flavor and Stability of Pasteurized Milk with Elevated Levels of Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid. *J. Dairy Sci.*, v. 88, p.489–498, 2005.

MALPUECH-BRUGERE, C.; VERBOEKET-VAN DE VENNE, W. P.; MENSINK, R. P.; ARNAL, M. A; MORIO, B.; BRANDOLINI, M.; SAEBO, A.; LASSEL, T. S.; CHARDIGNY, J. M.; SEBEDIO, J. L.; BEAUFRERE, B. Effects of two conjugated linoleic acid on body fat mass in overweight humans. *Obesity Research*, v. 12, p. 591-598, 2004.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. *Sensory evaluation techniques*. Boca Raton: CRC Press, 1991. 2v. 354p.

NAZARE, J.A.; DE LA PERRIERE, A.B.; BONNET, F.; DESAGE, M.; PEYRAT, J.; MAITREPIERRE, C.; LOUCHE-PELISSIER, C.; BRUZEAU, J.; GOUDABLE, J.; *et al.* Daily intake of conjugated linoleic acid-enriched yoghurts: effects on energy metabolism and adipose tissue gene expression in healthy participants. *Br J Nutr.*, v. 97, p. 273–280, 2007.

RAFF, M.; THOLSTRUP, T.; TOUBRO, S.; BRUUN, J.M.; LUND, P.; STRAARUP, E.M.; CHRISTENSEN, R.; SANDBERG, M.B.; MANDRUP, S. Conjugated Linoleic Acids Reduce Body Fat in Healthy Postmenopausal Women. *J. Nutr.* v. 139, p. 1–6, 2009.

RAMASWAMY, N.; BAER, R. J.; SCHINGOETHE, D. J.; HIPPEN, A. R.; KASPERSON, K. M.; WHITLOCK, L. A. Short Communication: Consumer Evaluation of Milk High in Conjugated Linoleic Acid. *J. Dairy Sci.*, v. 84, p.1607–1609, 2001.

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 randomised controlled trial. *Int. J. Obes.*, v. 25, p.1129-1135, 2001.

STONE, H.; SIDEL, J. *Sensory evaluation practice*. New York: Academic Press, 1993. 338p.

WHIGHAM, L. D.; O'SHEA, M.; MOHEDE, I. C. M.; WALASKI, H. P.; ATKINSON, R. L. Safety profile of conjugated linoleic acid in a 12-month trial in obese humans. *Food Chem. Toxicol.*, v.42, p. 1701-1709, 2004.

ZAMBELL, K. L.; KEIM, N.L.; VAN LOAD, M. D.; GALE, B.; BENITO, P.; KELLEY D. S.; NELSON, G. J. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition. *Lipids*, v. 35, n. 7, p. 777-782, 2000.

## CAPÍTULO IV

# PRODUÇÃO EM LARGA ESCALA DE BEBIDAS LÁCTEAS SABOR CHOCOLATE ADICIONADAS DE ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO E DE ÓLEO DE CANOLA

### RESUMO

O objetivo deste trabalho constituiu em produzir, em larga escala, duas bebidas lácteas sabor chocolate, uma adicionada de ácido linoléico conjugado (BECLA), e outra de óleo de canola (BECAN), a partir de dados obtidos no desenvolvimento laboratorial, com ênfase no estudo das características químicas, estabilidade oxidativa e aceitação do produto final. Todas as etapas do processo industrial foram desenvolvidas a partir da adaptação das técnicas utilizadas em escala laboratorial. O estudo da composição química das bebidas baseou-se na determinação da umidade, cinzas, proteínas, lipídios, além do cálculo do teor de carboidratos e do valor calórico. A avaliação da estabilidade das bebidas foi realizada pelas medidas do pH e da estabilidade oxidativa pelo método de TBARS. A aceitação global das bebidas foi avaliada por teste afetivo, utilizando-se uma escala hedônica de 9 pontos. Na mesma ficha, foi incluída uma escala de intenção de compra estruturada de 5 pontos. Os resultados obtidos indicaram que o valor calórico da BECAN foi maior que o da BECLA, seguido do que foi encontrado para a bebida comercial, a qual foi utilizada para comparação neste trabalho. Ainda, a BECAN apresentou maiores teores de carboidratos e de proteínas, que as outras 2 bebidas. A quantidade de cinzas foi semelhante ao da BECLA e superior ao do produto comercial. Este último obteve o menor teor de lipídeos, quando comparado à BECAN e à BECLA. Por último, ressalta-se que a bebida comercial apresentou o maior teor de umidade em relação à BECLA e à BECAN. A adição de ácido linoléico conjugado ou óleo de canola não influenciou na estabilidade das bebidas desenvolvidas neste trabalho, durante o período do estudo, visto que não houve diferença significativa nos valores de pH e de TBARS entre as duas bebidas. A BECLA e a BECAN apresentaram melhor aceitação que a bebida comercial, entretanto, não houve diferença significativa na intenção de compra entre as três bebidas.

**Palavras-chave:** ácido linoléico conjugado, bebida láctea, escalonamento, composição química, estabilidade, avaliação sensorial.

## 1 INTRODUÇÃO

Novos produtos constituem uma das principais fontes de crescimento das receitas das empresas. O desenvolvimento de um produto alimentício é um processo complexo e de natureza multidisciplinar, que exige uma estreita relação entre a administração da empresa, a equipe de pesquisa e desenvolvimento e os setores de marketing, produção, compras, controle de qualidade e vendas, consumidores e fornecedores, para se obter o sucesso desejado (WILLIE *et al.*, 2004).

Após as etapas iniciais, que envolvem o estudo de mercado e a definição do produto, ocorre a elaboração dos protótipos e os testes industriais, para definição dos parâmetros de processo, da formulação e das especificações finais (KOTLER, 2000). A composição química e o estudo da vida de prateleira são importantes para caracterizar o produto, ou seja, conhecer os seus nutrientes e valor calórico, além do seu comportamento durante o tempo de armazenamento (WILLE, 1999).

Os protótipos, ainda, são levados a uma pesquisa de mercado, para validação do conceito do produto e avaliação da preferência dos consumidores (KOTLER, 2000). A avaliação sensorial, na indústria de alimentos, é uma importante ferramenta para a decisão do processo de produção, visando minimizar o risco associado com a introdução de novos produtos no mercado (BECH *et al.*, 1994).

O consumo de bebidas lácteas aumentou nos últimos anos (ABIQ, 2004), e a indústria de laticínios, vislumbrando este mercado, vem agregando valor aos produtos, principalmente com a formulação de alimentos com propriedades funcionais (ANTUNES *et al.*, 2007), visto que, o consumidor busca, cada vez mais, alimentos saudáveis e, preferencialmente, com fatores que atuem na promoção de efeitos fisiológicos benéficos à saúde (PADILHA & PINHEIRO, 2004).

O ácido linoléico conjugado (CLA) é um conjunto de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico com duplas ligações conjugada. Estudos com animais e humanos sugerem alguns benefícios do CLA para saúde, como efeito protetor contra alguns tipos de câncer (IP, 1997) e modulação da composição corporal, reduzindo a deposição de gordura e aumentando a massa magra (PARK *et al.*, 1997; OSTROWSKA *et al.*, 1999; BLANKSON *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; GAULLIER *et al.*, 2004). Devido a estes efeitos, RAMASWAMY *et al.* (2001), demonstraram o interesse dos consumidores em alimentos enriquecidos com CLA.

Apesar de alguns trabalhos sobre os efeitos do CLA no organismo já terem sido relatados na literatura, os dados com humanos são escassos, o que demonstra a necessidade da realização de mais estudos com este grupo (BLANKSON *et al.*, 2000; ZAMBELL *et al.*, 2000; GAULLIER *et al.*, 2004; MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006; NAZARE *et al.*, 2007; LASO *et al.*, 2007; RAFF *et al.*, 2009).

Assim sendo, considerando que a sequência deste estudo consistirá na realização de um ensaio clínico com humanos, com o intuito de se avaliar o efeito da suplementação dietética do CLA, incorporado em uma bebida láctea, o presente trabalho foi desenvolvido com a finalidade de produzir, em larga escala, duas bebidas lácteas sabor chocolate, uma adicionada de CLA e outra de óleo de canola, uma vez que esta última será utilizada como placebo no estudo clínico. Este trabalho envolveu, ainda, a análise destas 2 bebidas quanto à determinação da composição química, à avaliação da estabilidade oxidativa e à aceitação do produto final.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 MATERIAL**

O leite fluido padronizado a 1,5% de gordura, o soro de leite fluido e o mix de ingredientes para bebida láctea sabor chocolate foram gentilmente fornecidos pela CEMIL (Cooperativa Central Mineira de Laticínios LTDA, Patos de Minas, MG, Brasil). O óleo de canola foi adquirido no comércio de Patos de Minas – MG e o CLA (Clarinol<sup>®</sup> G 80), foi fornecido pela Lipid Nutrition (Wormerveer, Holanda). Na produção das bebidas lácteas foi usado o equipamento tri-blender Almix de 210 L e a planta de ultra alta temperatura (UAT), ambos da Tetra Pack (São Paulo, Brasil).

Para a determinação do pH das bebidas foi usado potenciômetro Tecnal, modelo TCE-2 (Piracicaba, SP, Brasil) e para a avaliação da oxidação lipídica foi usado o espectrofotômetro CECIL modelo CE2041 (Buck Scientific, Inglaterra).

## 2.2 MÉTODOS

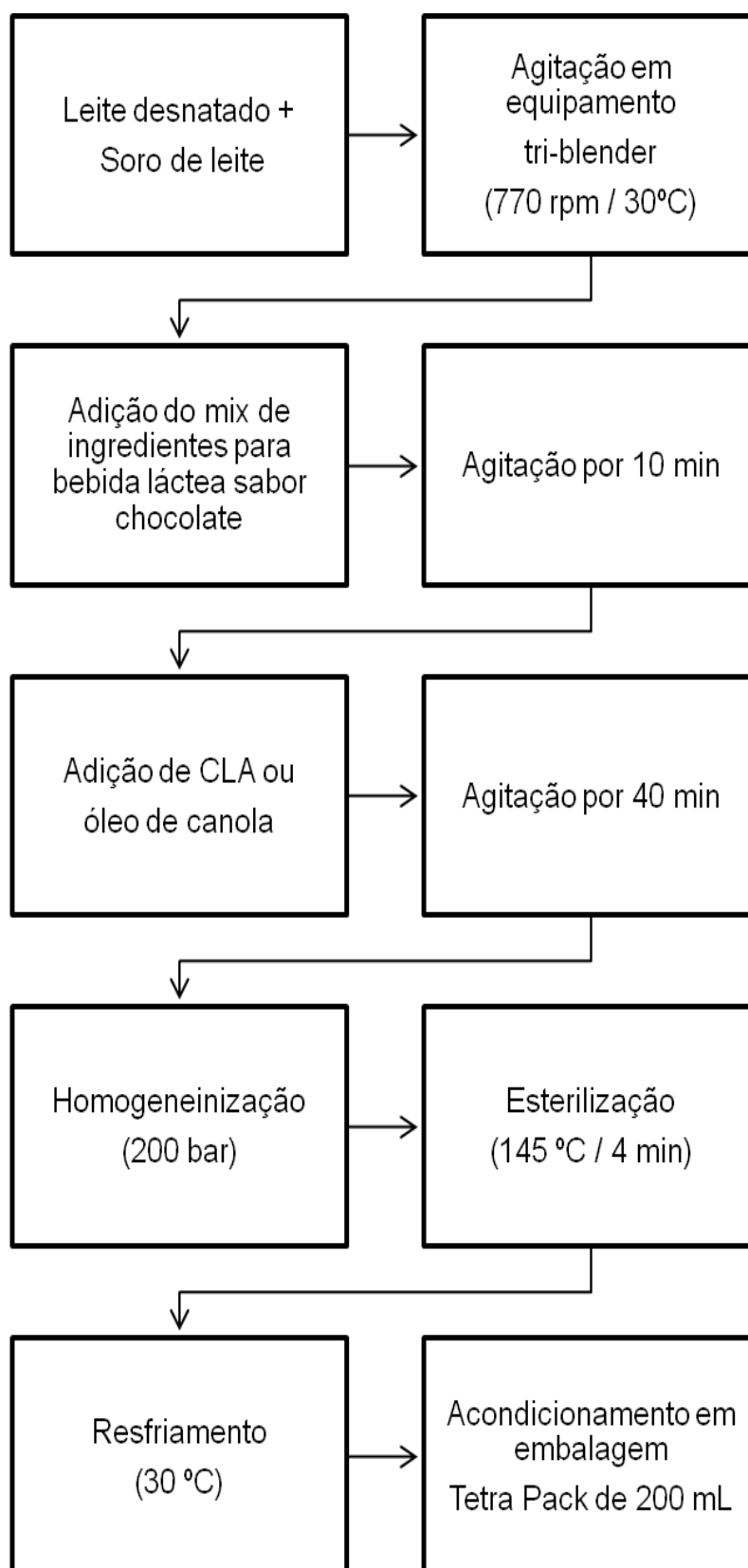
### 2.2.1 Produção em escala industrial das bebidas lácteas sabor chocolate

As bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA (BECLA) ou de óleo de canola (BECAN) foram produzidas na fábrica de laticínios da CEMIL, a partir dos dados obtidos no desenvolvimento laboratorial da bebida láctea, principalmente quanto à incorporação do CLA, na forma oleosa. Todos os processos industriais foram acompanhados, visando à adaptação das técnicas laboratoriais à indústria.

Inicialmente, o soro de leite foi adicionado ao leite no equipamento tri-blender de 210 L, sob agitação constante (770 rpm). Esta mistura foi aquecida a 30°C e, em seguida, foi acrescentado o mix de ingredientes para bebida láctea sabor chocolate. Após 10 min, o CLA ou o óleo de canola foi adicionado (1g / 100 mL), ainda sob agitação, que foi mantida por mais 40 min. A bebida passou, então, pelo processo de ultra alta temperatura (UAT) em uma planta da Tetra Pack (São Paulo, Brasil), onde foi homogeneizada (200 bar), esterilizada (145°C por 4 min), resfriada (30°C) e acondicionada em embalagem de 200 mL. Na Figura IV.1 está apresentado o fluxograma da produção das bebidas.

### 2.2.2 Determinação da composição química das bebidas lácteas

Todas as análises da composição química foram realizadas em triplicata, segundo as metodologias descritas pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995). A umidade foi determinada pelo método de secagem em estufa a 105 °C até peso constante; as cinzas ou minerais, por incineração, em mufla a 550 °C; as proteínas foram determinadas pelo método de micro- Kjeldahl, com fator de conversão de nitrogênio para proteína de 6,25. Os lipídios foram determinados pelo método de Bligh & Dyer (1954). O carboidrato foi calculado por diferença e o valor calórico a partir dos dados de composição centesimal, de acordo com a RDC nº 360 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998), tendo sido usados os fatores de conversão de 4 Kcal.g<sup>-1</sup> para carboidratos e proteínas e de 9 Kcal.g<sup>-1</sup> para lipídeos.



**Figura IV.1** – Fluxograma da produção industrial das bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA (BECLA) ou de óleo de canola (BECAN).



## **2.2.3 Avaliação da estabilidade das bebidas lácteas**

### **2.2.3.1 Determinação do pH**

O valor do pH das amostras das bebidas lácteas sabor chocolate foi determinado pelo método da AOAC (1995).

### **2.2.3.2 Avaliação da oxidação lipídica**

A quantidade de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid reactive substances* - TBARS) das bebidas lácteas sabor chocolate foi realizada de acordo com o método descrito por ROSMINI *et al.* (1996), com algumas modificações, como a quantidade de amostra (0,04 g) e o volume dos reagentes (5 mL de água destilada, 5 mL de ácido tricloracético e 2,5 mL de ácido tiobarbitúrico). A absorbância foi lida a 532 nm em espectrofotômetro. As amostras foram analisadas logo após o término da formulação do produto (mês zero), e depois de 1, 2, 3 e 4 meses de armazenamento à temperatura ambiente.

## **2.2.4 Análise sensorial das bebidas lácteas**

O teste afetivo foi realizado em laboratório de análise sensorial equipado com cabines individuais e luz branca. Os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, e responderam a um questionário sobre o consumo de bebidas lácteas.

Avaliou-se a aceitação global da BECLA em comparação com a BECAN e com uma bebida láctea comercial da CEMIL, por meio de um grupo de 72 consumidores potenciais deste tipo de bebida, não treinados, universitários, na maioria mulheres (92,33%), com idade entre 18 e 25 anos (80%), selecionados em função da disponibilidade, interesse e hábito de consumir bebidas lácteas. Foi usado uma escala hedônica de 1 a 9 pontos, em que o ponto 1 correspondia a "desgostei muitíssimo" e o ponto 9 a "gostei muitíssimo".

Na mesma ficha, foi incluída uma escala de intenção de compra estruturada de 5 pontos, onde 1 correspondia a "certamente compraria" e 5 "certamente não compraria". As amostras foram apresentadas de forma monádica, sequencial,

utilizando-se um delineamento de blocos completos balanceados, servidas a 10 °C, em um volume de 20 mL.

### 3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA). O teste de Duncan, a 5% de probabilidade, foi usado para determinar a diferença entre as médias.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Composição química das bebidas lácteas

Os teores dos constituintes das bebidas lácteas que foram avaliados estão apresentados na Tabela IV.1.

**Tabela IV.1** - Composição química das bebidas lácteas.

	Quantidade em 100 mL		
	BECLA	BECAN	Bebida comercial
Valor energético (Kcal)	73,63 <sup>b</sup> ±0,11	78,70 <sup>a</sup> ±0,53	66,72 <sup>c</sup> ±0,40
Carboidratos (g)	11,34 <sup>b</sup> ±0,02	12,32 <sup>a</sup> ±0,34	11,37 <sup>b</sup> ±0,20
Proteínas (g)	1,78 <sup>b</sup> ± 0,02	2,24 <sup>a</sup> ± 0,25	1,26 <sup>c</sup> ±0,11
Lipídeos (g)	2,35 <sup>a</sup> ± 0,03	2,27 <sup>b</sup> ± 0,12	1,8 <sup>c</sup> ±0,09
Cinzas (%)	0,68 <sup>a</sup> ±0,03	0,69 <sup>a</sup> ±0,02	0,58 <sup>b</sup> ±0,04
Umidade (%)	83,85 <sup>b</sup> ±0,03	82,48 <sup>b</sup> ±0,03	85,00 <sup>a</sup> ±0,02

BECLA: bebida láctea sabor chocolate adicionada de ácido linoléico conjugado. BECAN: bebida láctea sabor chocolate adicionada de óleo de canola. Bebida comercial: bebida láctea sabor chocolate fabricada pela CEMIL. Resultados representam a média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias indicadas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade na mesma linha.

Inicialmente, ressalta-se o fato de que todas as três bebidas podem ser classificadas como bebidas lácteas, pois, além de conterem 30% de soro de leite (máximo de 49%), atendem ao teor mínimo de proteínas de origem láctea (1,2 g/100g) estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 1999).

Além disso, observa-se que, de maneira geral, os resultados obtidos para a composição química das 3 bebidas estão próximos. As diferenças significativas encontradas, comparando-se os valores obtidos para a BECLA com os da BECAN, referem-se aos maiores teores de lipídeos e umidade, assim como aos menores de carboidratos e proteínas, assim como menor valor energético, respectivamente.

A diferença observada no teor de lipídeos pode ser explicada pelas perdas que ocorrem durante o processo de produção das bebidas, principalmente quando os ingredientes são misturados no tri-bender. Neste momento, pode ocorrer adesão de ingredientes, em especial do óleo, à parede do equipamento, dificultando, assim, a mistura total das partes e sua incorporação ao produto final. No caso do presente trabalho, este problema deve ter ocorrido em maior grau para a BECAN, em comparação com a BECLA. Desta forma, a ANVISA permite que haja uma variação de 20% no valor calórico e nos nutrientes informados no rótulo de alimentos industrializados (ANVISA, 2003). Vale ressaltar que, para efeito de cálculo de dietas, admite-se uma variação de 10% no valor calórico e no teor de nutrientes (NRC, 2001).

A comparação da composição química entre as bebidas aqui produzidas, BECLA e BECAN, com a comercial revela, respectivamente, maiores teores de proteínas, lipídeos e cinzas, assim como maior valor energético. Por outro lado, os valores obtidos para umidade das primeiras bebidas foram inferiores ao da comercial. Ainda, o teor de carboidratos da BECAN foi superior ao da bebida comercial, enquanto que não houve diferença significativa entre os resultados encontrados para a BECLA e esta segunda bebida.

As diferenças observadas no teor de lipídeos e no valor energético, podem ser explicadas pela adição de material lipídico (CLA ou óleo de canola) nas bebidas aqui produzidas. Além disto, para o preparo da BECLA e BECAN, o leite foi padronizado com 1,5% de gordura, enquanto que, para a bebida comercial foi de 3%.

Apesar da tendência atual em substituir os lipídeos dos alimentos por ingredientes com menor contribuição energética (ZAMBRANO *et al.*, 2004), a adição de CLA nesta bebida láctea pode apresentar diversos benefícios para a saúde, incluindo funções anticarcinogênicas (IP *et al.*, 2002; MA *et al.*, 2002), antiaterogênicas (SHER *et al.*, 2003), modificações na composição corporal (PARK *et al.*, 1997; BLANKSON *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; GAULLIER *et al.*, 2004) modulação na função imune (COOK *et al.*, 1993), entre outras.

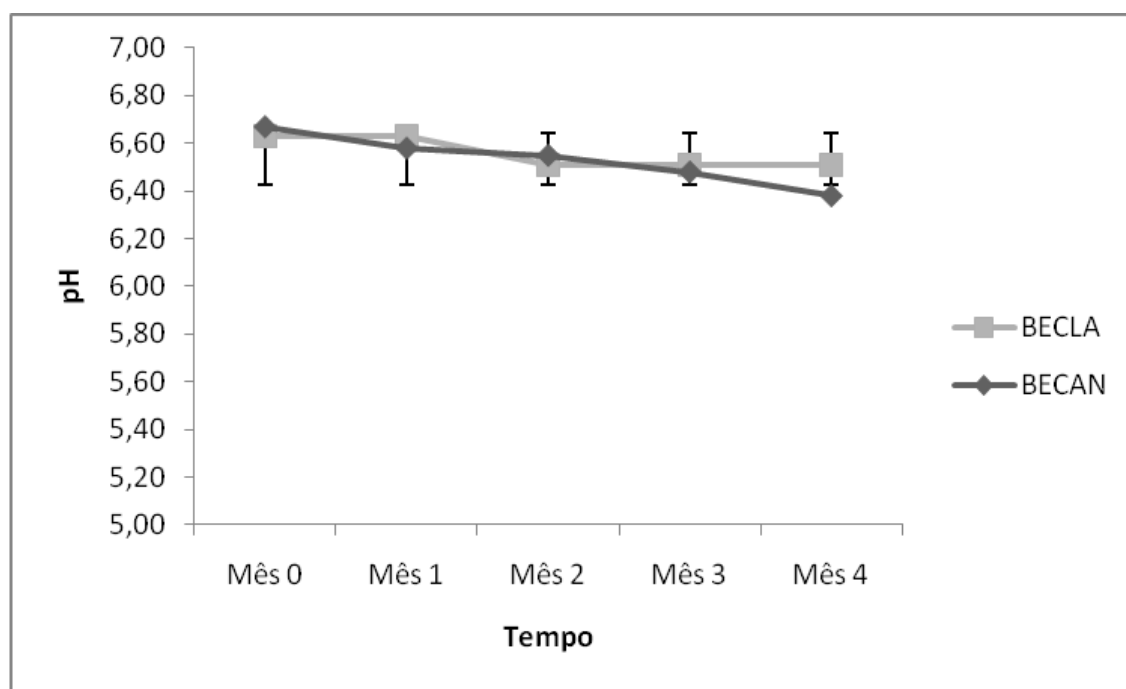
Não foram encontrados na literatura estudos que abordaram a determinação da composição química de bebidas lácteas não fermentadas. Desta forma, os resultados

deste trabalho foram comparados com bebidas lácteas fermentadas. ALMEIDA *et al.* (2001) avaliaram as características químicas de bebidas lácteas fermentadas preparadas com 30, 40 e 50% de soro de queijo adicionado ao leite. Os autores verificaram que, quanto maior a adição de soro, menor a quantidade de lipídeos das bebidas. Os outros nutrientes não apresentaram diferença estatística. Os teores de lipídeos e de proteínas das bebidas foram próximos ao encontrados no presente trabalho, tendo variado de 2,01 a 1,59% e de 2,14 a 1,94%, respectivamente. Em outro estudo, foram analisadas as características químicas de bebidas lácteas fermentadas por probióticos e acrescentadas de prebióticos. Os teores de proteínas (2,18 a 1,96%) e de cinzas (0,61 a 0,53%) foram semelhantes aos do presente trabalho. Já, os lipídeos variaram de 0 a 0,1%, resultado diferente do encontrado aqui, devido ao fato do leite desnatado ter sido usado na formulação das bebidas fermentadas. Da mesma forma, os carboidratos apresentaram um valor maior em comparação com as bebidas desenvolvidas aqui, chegando a 16,27%, visto que o seu cálculo foi feito por diferença (THAMER e PENNA, 2006).

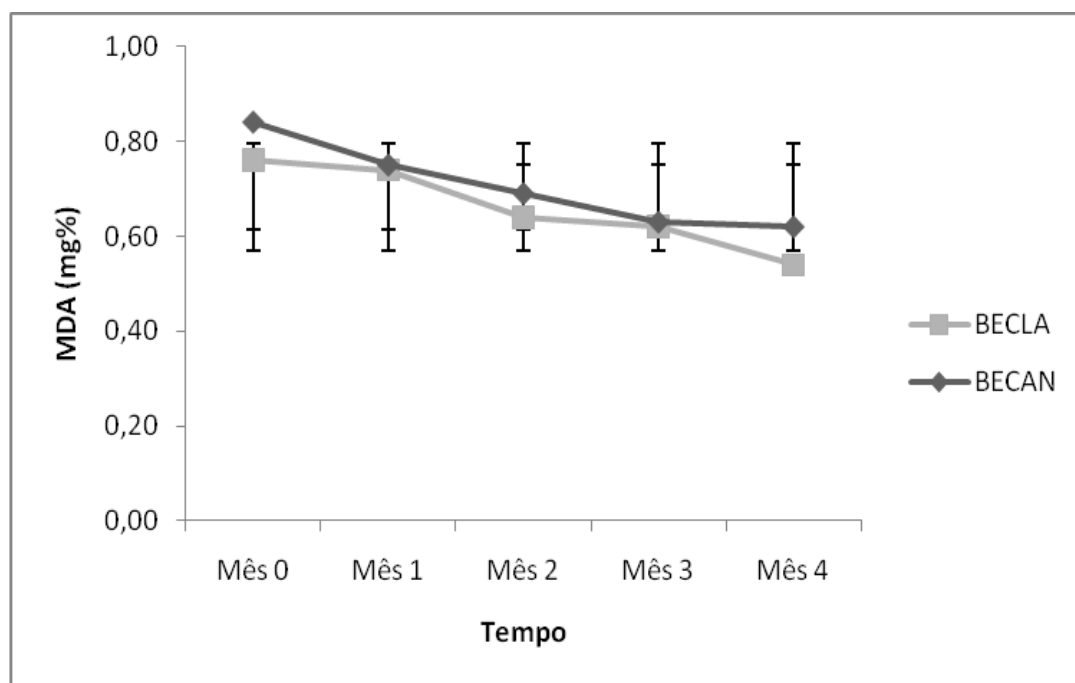
#### **4.2 Estabilidade das bebidas lácteas**

Observa-se nas Figuras IV.2 e IV.3, respectivamente, que não houve diferença significativa entre os valores obtidos para o pH e a oxidação lipídica, durante os 4 meses de estudo, tanto para a BECLA como para a BECAN, demonstrando a estabilidade química das bebidas.

No caso do pH, os valores se mantiveram em torno de 6,5 para as duas bebidas, enquanto que no que se refere à medida de oxidação lipídica, os teores de malonaldeído ficaram na faixa de 0,66 para a BECLA e de 0,71 para a BECAN, ao longo dos 4 meses de estudo.



**Figura IV.2** – Efeito do tempo de armazenamento sobre os valores de pH das bebidas lácteas adicionadas de CLA (BECLA) ou canola (BECAN). Os resultados representam a média das triplicatas.



**Figura IV.3** – Efeito do tempo de armazenamento sobre os valores de TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico) das bebidas lácteas adicionadas de CLA (BECLA) ou canola (BECAN). MDA = concentração de malonaldeído (mg /100 g de bebida). Os resultados representam a média das triplicatas.

Não foram encontrados na literatura relatos sobre a avaliação da estabilidade de bebidas lácteas não fermentadas, envolvendo a oxidação lipídica, e a medida de pH ou outro método de estudo de estabilidade. Entretanto, esta avaliação vem sendo utilizada em bebidas lácteas fermentadas devido ao seu menor tempo de vida-de-prateleira associada à presença de microrganismos vivos. Desta forma, SIVIERI & OLIVEIRA (2002) estimaram a vida-de-prateleira de bebidas lácteas fermentadas, formuladas com substitutos de gordura, pelo teor de acidez e teor de tirosina. O tempo ideal de armazenamento, estimado pelos autores, foi de 28 dias. Em outro estudo, o *buttermilk*, um tipo de bebida láctea fermentada, foi avaliado por análises microbiológicas. Os autores verificaram o tempo que as bactérias probióticas permaneceram em número viável, de acordo com a legislação brasileira, para que tivessem efeito benéfico para a saúde do consumidor. Além disto, no que se refere aos parâmetros de higiene, todas as amostras atenderam às exigências do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (ANTUNES *et al.*, 2007) durante o tempo de armazenamento, que foi de 30 dias.

Os resultados aqui encontrados foram, igualmente, comparados com os obtidos para o leite, uma vez que trata-se de uma emulsão óleo em água, semelhante à BECLA e à BECAN. Desta forma, a estabilidade oxidativa do leite de vacas alimentadas com soja extrusada e selênio orgânico foi avaliada por TBARS e índice de peróxido (PASCHOAL *et al.*, 2007). Segundo os autores do estudo, o consumo de ração à base de soja extrusada aumentou o teor de ácidos graxos polinsaturados e de CLA no leite e, conseqüentemente, a sua oxidação lipídica, resultado diferente do encontrado no presente trabalho. O leite utilizado por laticínios e, conseqüentemente na produção das bebidas aqui desenvolvidas, provavelmente, é de gado alimentado com ração não modificada, que gera uma gordura láctea com menor teor de ácidos graxos polinsaturados e, portanto, mais estável à oxidação lipídica, o que poderia explicar a diferença dos resultados obtidos.

#### **4.3 Parâmetros sensoriais das bebidas lácteas**

Os resultados da avaliação sensorial de aceitação e de intenção de compra para a BECLA, a BECAN e a bebida comercial estão apresentados na Tabela IV.2. Observa-se, inicialmente, que a bebida láctea adicionada de CLA foi a que apresentou a melhor aceitação, seguida da BECAN e, por último, a bebida comercial. Além disso, no que se

refere à intenção de compra, os dados da Tabela IV.2 indicam que não houve diferenças significativas entre as 3 bebidas.

Sendo assim, o conjunto destes resultados revela a superioridade da bebida láctea adicionada de CLA, do ponto de vista sensorial, sobre as outras 2.

**Tabela IV.2** – Aceitação e intenção de compra das amostras de bebida láctea adicionada de CLA ou canola.

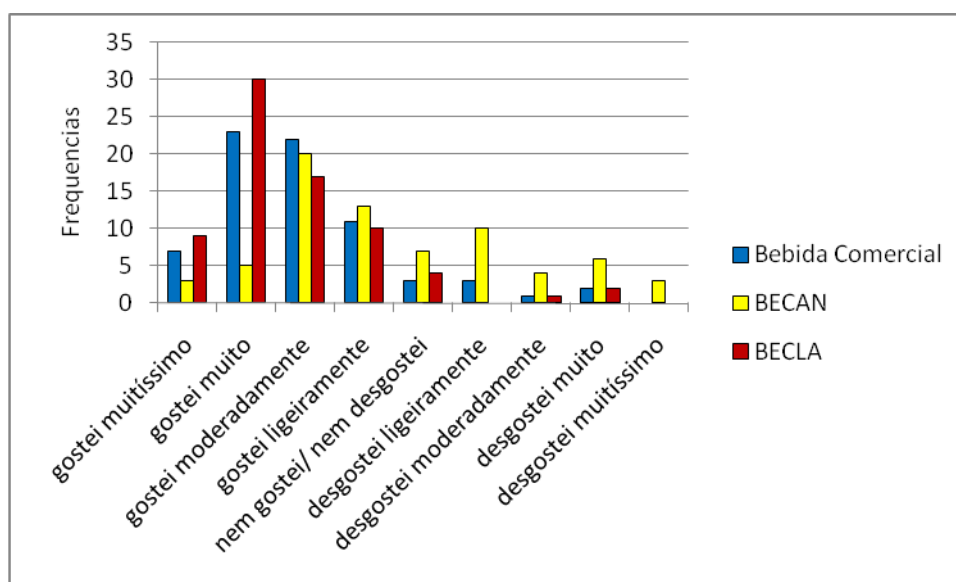
<b>Amostra</b>	<b>Aceitação</b>	<b>Intenção de compra</b>
BECLA	7,22 <sup>a</sup> ± 1,46	2,12 <sup>a</sup> ± 0,97
BECAN	6,96 <sup>a</sup> ± 2,04	3,26 <sup>a</sup> ± 1,22
Bebida Láctea comercial	5,48 <sup>b</sup> ± 1,52	2,36 <sup>a</sup> ± 1,05

BECLA = Bebida láctea sabor chocolate adicionada de CLA. BECAN = Bebida láctea sabor chocolate adicionada de canola. Valores expressos como média ± desvio padrão. Para aceitação o valor 1 corresponde a "desgostei extremamente" e o valor 9 a "gostei extremamente". Para intenção de compra, o valor 1 corresponde a "certamente compraria" e o valor 5 corresponde a "certamente não compraria". Resultados com letras sobrescritas iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

Não foram encontrados trabalhos na literatura sobre a análise sensorial de bebidas lácteas não fermentadas. Sendo assim, os dados foram comparados com o do leite, uma emulsão óleo em água semelhante à BECLA e à BECAN. RAMASWAMY *et al.* (2001), realizaram uma avaliação sensorial do leite de vaca com teor aumentado de CLA, por modificação da dieta do gado. Os autores verificaram uma boa aceitação, resultado semelhante ao encontrado no presente trabalho.

Apesar da BECLA e da BECAN terem apresentado melhor aceitação, em relação à bebida láctea comercial, não foi encontrada diferença significativa entre as bebidas analisadas para a intenção de compra. Este resultado pode ser explicado pelo fato das 3 bebidas possuírem características sensoriais semelhantes.

O Gráfico IV.1 ilustra a frequência dos níveis de aceitação manifestados pelos provadores, com base na escala hedônica, variando de gostei muitíssimo e desgostei muitíssimo.



**Gráfico IV.1** – Frequências de respostas relativas à aceitação das bebidas lácteas sabor chocolate adicionadas de CLA (BECLA), de canola (BECAN) e comercial.

Pode-se observar que a bebida adicionada de CLA foi a que recebeu a maior frequência de manifestação para gostei muito e gostei muitíssimo, indicando que a adição de CLA pode ter favorecido a aceitação do produto final, no caso das bebidas formuladas no presente trabalho.

## 5 CONCLUSÃO

As duas bebidas lácteas sabor chocolate, uma adicionada de ácido linoléico conjugado (BECLA) e outra de óleo de canola (BECAN), produzidas, em larga escala, apresentaram diferenças na composição química, sendo que a BECAN revelou valor calórico mais elevado e maiores teores de carboidratos e de proteínas. Por outro lado, o teor de lipídeos foi superior para a BECLA, e a quantidade de umidade e de cinzas foi igual para as duas bebidas. A estabilidade da BECLA e da BECAN foi semelhante, durante o período do estudo e, as duas bebidas apresentaram melhor aceitação que uma bebida comercial, entretanto, a intenção de compra foi semelhante para as três bebidas.



## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. Dados de Produção Brasil em toneladas de produtos Lácteos - 2004. ABIQ: São Paulo, 2004.

ALMEIDA, K.E.; BONASSI, I.A.; ROÇA, R.O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. *Ciênc. Technol. Aliment.*, v. 21, n. 2, p. 187-192, 2001.

ANTUNES, A. E. C.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; DOURADO, F. M.; RODRIGUES, L. G.; LERAYER, A. L. S. Desenvolvimento de buttermilk probiótico. *Ciênc. Technol. Aliment.*, Campinas, v. 27, n. 1, p. 83-90, 2007.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução – RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. Rotulagem obrigatória de alimentos e bebidas embalados. 2003.*

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYSIS CHEMISTS. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16th edition, Arlington, 1995.

BECH, A.C.; ENGELUND, E.; JUHL, H.J.; KRISTENSEN, K.; POULSEN, C.C. *Optimal design of food products*. Working paper. n°. 19. Aarhus: MAPP Centre, 1994.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J. Nutr.*, v. 130, p.2943-2948, 2000.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J.. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Physiol.*, v. 37, p. 911-917, 1959.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. *Portaria nº 57 de 08 de dezembro de 1999. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas*. DAS/SIPOA, 1999.

COOK, M. E.; MILLER, C. C.; PARK, Y.; PARIZA, M. W. Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. *Poultry Sci.*, v. 72, p.1301-1305, 1993.

GAULLIER, J. M.; HALSE, J.; HØYE, K.; KRISTIANSEN, K.; FARGENTUN, H.; VIK, H.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 year reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 79, p. 1118-1125, 2004.

IP, C.; DONG, Y.; IP, M. M.; BANNI, S.; CARTA, G. Conjugated linoleic acid isomers and mammary cancer prevention. *Nutr. Cancer*, 2002.

IP, C.; JIANG, C.; THOMPSON, H. J.; SCIMECA, J. A. Retention of conjugated linoleic acid in the mammary gland is associated with tumor inhibition during the post – initiation phase of carcinogenesis. *Carcinogenesis*, v. 18, p.755-759, 1997.

KOTHEER, P. *Administração de Marketing*. São Paulo: Ed Pearson – Prentice Hall, 2000.

LARSEN, T. M. Conjugated linoleic acid supplementation for 1y does not prevent weight or body fat regain. *Am J Clin Nutr*, v. 83, p. 606-612, 2006

LASO, N.; BRUGUÉ, E.; VIDAL, J.; 2, ROS, E.; ARNAIZ, J.A.; CARNÉ, X.; VIDAL, S.; MAS, S.; DEULOFEU, R.; LAFUENTE, A. Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid (isomers cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12) on body composition and metabolic syndrome components. *British J. Nutr.*, v. 98, p. 860–867, 2007.

MA, D.; WIERZBICKI, A.; FIELD, C.; CLANDININ, M.T. Conjugated linoleic acid in Canadian dairy and beef products. *J. Agri. Food Chem.* v. 47, p.1956-1960, 2002.

MALPUECH-BRUGERE, C.; VERBOEKET-VAN DE VENNE, W. P.; MENSINK, R. P.; ARNAL, M. A; MORIO, B.; BRANDOLINI, M.; SAEBO, A.; LASSEL, T. S.; CHARDIGNY, J. M.; SEBEDIO, J. L.; BEAUFRERE, B. Effects of two conjugated linoleic acid on body fat mass in overweight humans. *Obesity Research*, v. 12, p. 591-598, 2004.

NAZARE, J.A.; DE LA PERRIERE, A.B.; BONNET, F.; DESAGE, M.; PEYRAT, J.; MAITREPIERRE, C.; LOUCHE-PELISSIER, C.; BRUZEAU, J.; GOUDABLE, J.; *et al.* Daily intake of conjugated linoleic acid-enriched yoghurts: effects on energy metabolism and adipose tissue gene expression in healthy participants. *Br J Nutr.*, v. 97, p. 273–280, 2007.

NRC – National Academy Press. *Dietary reference intakes: applications in dietary assessment*. Washington: National Academy Press, 2001.

OSTROWSKA, E.; MURALITHARAN, M.; CROSS, R. F.; BAUMAN, D. E.; DUNSHEA, F. R. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *Journal of Nutrition*, v.129, p.2037-2042, 1999.

PADILHA, P.C.; PINHEIRO, R.L. O papel dos alimentos funcionais na prevenção e controle do câncer de mama. *Rev. Bras. Cancerologia*, v.50, p.251-260, 2004.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. L; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.; PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, v. 31, p.853-858, 1997.

PASCHOAL, J.J.; ZANETTI, M.A.; DEL CLARO, G.R.; MELO, M.P.; PUGINE, S.P.; CUNHA, J.A. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas holandesas alimentadas com soja extrusada e selênio orgânico. *Pesq. Agropec.Bras.*, v.42, n.12, p.1793-1799, 2007.

RAFF, M.; THOLSTRUP, T.; TOUBRO, S.; BRUUN, J.M.; LUND, P.; STRAARUP, E.M.; CHRISTENSEN, R.; SANDBERG, M.B.; MANDRUP, S. Conjugated Linoleic Acids Reduce Body Fat in Healthy Postmenopausal Women. *J. Nutr.* v. 139, p. 1–6, 2009.

RAMASWAMY, N.; BAER, R. J.; SCHINGOETHE, D. J.; HIPPEN, A. R.; KASPERSON, K. M.; WHITLOCK, L. A. Short Communication: Consumer Evaluation of Milk High in Conjugated Linoleic Acid. *J. Dairy Sci.*, v. 84, p.1607–1609, 2001.

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 randomised controlled trial. *Int. J. Obes.*, v. 25, p.1129-1135, 2001.

ROSMINI, M. R.; PERLO, F.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A.; PAGÁN-MORENO, M. J.; GAGO-GAGO, A.; LÓPEZ-SANTOVEÑA, F.; ARANDA-CATALÁ, V. TBA test by an extractive method applied to paté. *Meat Sci.*, v.42, p.103-110, 1996.

SHER, J.; PRONCZUK, A.; HAJRI, T.; HAYES, K. C. Dietary conjugated linoleic acid lowers plasma cholesterol during cholesterol supplementation, but accentuates the atherogenic lipid profile during the acute phase response in hamsters. *J. Nutr.*, v. 133, p.456-460, 2003.

SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M.N. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com “fat replacers” (litesse e dairy-lo). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 22, n. 1, p. 24-31, 2002.

THAMER, K.G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebióticos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

WILLE, G.M.F.C.; WILLE, A.S.; KOEHLER, H.S.; FREITAS, R.J.S.; HARACEMIV, S.M.C. Práticas de desenvolvimento de novos produtos alimentícios na indústria paranaense. *Rev. FAE, Curitiba*, v.7, n.2, p.33-45, jul./dez. 2004.

ZAMBELL, K. L.; KEIM, N.L.; VAN LOAD, M. D.; GALE, B.; BENITO, P.; KELLEY D. S.; NELSON, G. J. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition. *Lipids*, v. 35, n. 7, p. 777-782, 2000.

ZAMBRANO, F. ; DESPINOY, P. ; ORMENESE, R. ; FARIA, E. V. . The use of guar and xanthan gums in the production of light low fat cakes. *Int. J. Food Sci Tech.*, v. 39, p. 959-966, 2004.

## CAPÍTULO V

# AVALIAÇÃO DA GORDURA CORPORAL DE MULHERES OBESAS SEGUNDO ANTROPOMETRIA, BIOIMPEDÂNCIA E ABSORTOMETRIA RADIOLÓGICA DE DUPLA ENERGIA

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar e comparar os percentuais de gordura corporal (%GC), de mulheres obesas, obtidos por 3 metodologias diferentes: antropometria, bioimpedância (BIA) e absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA). Foram avaliadas 28 voluntárias apresentando em média 27,7 anos, 76,2 Kg, 1,63 m de altura e índice de massa corporal (IMC) de 28,5 Kg/m<sup>2</sup>. A avaliação da gordura corporal por DEXA, dobras cutâneas (DC) e BIA apresentaram médias de 44,1%, 39,8% e 34,3%, respectivamente. Os resultados de IMC para classificação de obesidade apresentaram diferenças estatísticas quando comparados aos 3 métodos citados acima. Conclui-se que há diferenças estatisticamente significativas entre os valores da medição do percentual de gordura obtidos pelas 3 técnicas, tendo a DEXA apresentado maior sensibilidade, seguida das DC e BIA. Todas as técnicas forneceram valores fortemente associados ao IMC, entretanto, foram encontrados indivíduos classificados como eutróficos pelo IMC, porém com o %GC acima de 30%.

**Palavras-chave:** Mulheres obesas, antropometria, DEXA, bioimpedância.

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com estudo divulgado pelo Ministério da Saúde, a obesidade preocupa mais que a desnutrição, uma vez que enquanto esta última caiu de 9,5% para 4% da população, o número de brasileiros obesos aumentou consideravelmente entre 1975 e 2003. Atualmente, 40% dos adultos no país estão acima do peso, considerando o Índice de Massa Corporal (IMC) superior a 25. Ao levar-se em conta o total de obesos, ou seja, pessoas com IMC superior a 30, o percentual é de 8,8% para os homens e 12,7% para as mulheres (IBGE, 2004).

Em estudos epidemiológicos, a avaliação clínica do excesso de peso e da obesidade tem sido comumente realizada pela determinação da composição corporal, associada à quantificação dos principais componentes estruturais do corpo humano, dividindo-o em tecidos específicos que compõem a massa corporal total (RECH *et al.*, 2006). Métodos diretos ou indiretos possibilitam a quantificação dos principais componentes do corpo, como os ossos, os músculos e a gordura (HEYMSFIELD *et al.*, 2005).

A avaliação nutricional representa uma abordagem completa da composição corporal, realizada pelo nutricionista, para estimar o estado nutricional do indivíduo, detectando suas necessidades alimentares. Existem diversos métodos que podem ser empregados na realização de uma avaliação nutricional, sendo que a sua escolha depende da população atendida, da disponibilidade de recursos, da intenção do estudo, dentre outros fatores (RODRIGUES *et al.*, 2001).

O índice de massa corporal (IMC) é o método mais utilizado para classificação do sobrepeso e obesidade em populações adultas (OMS, 2000). Ele é um indicador da densidade do corpo, que se correlaciona com a gordura corporal (GC), e tem sido amplamente utilizado por ser prático, rápido, além de requerer equipamentos de menor custo (MALINA & KATZMARZ, 1995, NORGAN, 2005). Entretanto, com este índice não é possível mensurar a massa de gordura, e, por isto, o seu uso com o propósito de diagnosticar a GC é questionado (RICARDO & ARAÚJO, 2002; HEYMSFIELD *et al.*, 2005).

As dobras cutâneas (DC) apresentam grande aceitabilidade para identificação do excesso de GC (BARBOSA *et al.*, 2001). Além disto, os valores de GC estimados por esta técnica se associam muito bem com a pesagem hidrostática, em indivíduos que não apresentam obesidade (PICHARD *et al.*, 1997; GLANER & RODRIGUEZ 1999; SALEM

*et al.*, 2004). Nesta população, a grande quantidade de gordura localizada, dificulta uma mensuração precisa das DC (BARBOSA *et al.*, 2001).

A bioimpedância (BIA) consiste uma técnica de avaliação da composição corporal rápida com relativa simplicidade (BARBOSA *et al.*, 2001), e baseia-se no fato de que os tecidos com elevado conteúdo de água e de eletrólitos apresentam elevada capacidade de condução elétrica, ao passo de que os tecidos com baixas concentrações de água apresentam alta resistência à passagem de corrente (McARDLE *et al.*, 2003).

A absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA) representa uma técnica amplamente utilizada para a mensuração de massa e densidade mineral (DEFAVORI & SARRIÉS, 2007), que permite uma avaliação rápida e com dados confiáveis, porém, de alto custo (LOBO *et al.*, 2004; RECH *et al.*, 2006). A medida obtida por DEXA tem sido aceita em estudos de validação, e no desenvolvimento de novas técnicas antropométricas de avaliação da composição corporal (RECH *et al.*, 2006).

Diferentes métodos de avaliação da composição corporal foram comparados em indivíduos saudáveis (RODRIGUES *et al.*, 2001; GLANER & ROSÁRIO, 2005; SCHOELLER *et al.*, 2005) e em indivíduos acometidos por enfermidades (KAMIMURA *et al.*, 2003; FLORINDO *et al.*, 2004; FREITAS *et al.*, 2005; NUNES *et al.*, 2009). Entretanto, ainda são necessários mais estudos na população brasileira, principalmente com gordura corporal elevada, para testar e comparar os diferentes métodos de avaliação da composição corporal, a fim de obter precisão e confiabilidade das medidas.

Desta forma, visando selecionar o melhor método de avaliação da composição corporal para mulheres obesas, o presente estudo constituiu em avaliar e comparar os percentuais de gordura corporal (%GC), nesta população, obtidos por antropometria, BIA e DEXA.

## **2 MÉTODOS**

### **2.1 População de estudo**

Foram recrutadas, aleatoriamente e de forma não probabilística, entre alunas e funcionárias de duas universidades de Belo Horizonte, Minas Gerais, mulheres obesas (percentual de gordura corporal maior do que 30), com idade entre 18 e 40 anos. Os critérios de exclusão abrangeram a presença de doenças crônicas como a hipertensão, o diabetes e as dislipidemias, assim como o uso de medicamentos controlados. Da

mesma maneira, foram excluídas mulheres em fase de lactação e gestantes. Após a aplicação dos critérios, foram selecionadas 28 mulheres.

As voluntárias foram informadas sobre o experimento clínico e os seus potenciais riscos e benefícios. Todas elas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes do início do estudo. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais (protocolo ETIC 400/05).

## **2.2 Delineamento experimental**

Trata-se de um estudo transversal, realizado em Belo Horizonte no mês de agosto de 2008, onde as voluntárias passaram pelas seguintes avaliações antropométricas: estatura, massa corporal, índice de massa corporal (IMC) e gordura corporal medida por três técnicas: dobras cutâneas (DC), bioimpedância elétrica (BIA) e absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA).

## **2.3 Antropometria**

A massa corporal foi obtida empregando-se uma balança médica de plataforma com estadiômetro (modelo 31, Filizola, São Paulo, Brasil) com carga máxima de 150 Kg e precisão de até 0,1 Kg, através de uma única medição, tendo o peso sido distribuído, igualmente, entre os pés, com o voluntário descalço e com o mínimo de roupas. Para a medida da estatura, foi utilizado o estadiômetro de madeira, fixado na parede, com alcance máximo de 220 cm e precisão de até décimos de centímetro (mm), de acordo com os procedimentos descritos por JELIFFE (1968).

O cálculo do índice de massa corporal (IMC) foi realizado pela fórmula que relaciona o peso (kg) com a altura (m) ao quadrado, sendo que os pontos de cortes utilizados foram os propostos pela OMS (1990).

As medidas das espessuras das dobras cutâneas (DC) foram obtidas com compasso de Lange (Cambridge Scientific Industries, Cambridge, EUA), com pressão uniforme de 10 g/mm<sup>2</sup>, em triplicata, nas dobras de tríceps, bíceps, subescapular e supra-ilíaca, em sequência rotacional, do lado direito do corpo. Os valores médios obtidos de cada local aferido foram usados para o cálculo da densidade corporal, de acordo com a fórmula de DURIN & WOMWERSLEY (1974). Para a conversão da densidade corporal em %GC, utilizou-se a equação de SIRI (1961).

## 2.4 Bioimpedância Elétrica (BIA)

A resistência e a reactância corporal foram medidas empregado-se o equipamento Biodynamics (versão 8.01, modelo 310, Biodynamics Corporation, Seattle, EUA), com o indivíduo deitado, na posição em decúbito dorsal, com os braços e pernas afastados 45° do corpo. A fixação dos eletrodos (tetrapolar) e os procedimentos de avaliação seguiram as recomendações do fabricante. As medidas de resistência e reactância foram convertidas em percentual de gordura corporal (%GC) pelo software do próprio equipamento.

## 2.5 Absortometria radiológica de dupla energia (DEXA)

A DEXA foi realizada no Laboratório *Hermes Pardini* (Belo Horizonte, MG), utilizando-se o equipamento da marca Lunar, modelo DPX-IQ (Lunar Radiation Corporation, Madison, EUA). As voluntárias foram avaliadas sem portar qualquer objeto metálico móvel ou acessório junto ao corpo.

Durante a avaliação, os sujeitos permaneceram deitados e imóveis sobre a mesa do equipamento, até a finalização da medida, em decúbito dorsal, com pés unidos e braços levemente afastados do corpo. Após a varredura do corpo inteiro, o programa forneceu o percentual de gordura corporal (%GC).

Para a realização de todas as avaliações, foi solicitado que as voluntárias adotassem as seguintes recomendações, a fim de minimizar os erros de medida: não realizar atividades físicas no dia anterior ao teste, não comer ou beber a menos de quatro horas do teste, urinar a menos de 30 min do teste, não consumir álcool a menos de 48 horas antes do teste, não tomar medicamentos diuréticos a menos de sete dias do teste (HEYWARD & STOLARCZYK, 1996).

## 3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A estatística descritiva foi utilizada para análise das variáveis. Os resultados de gordura corporal obtidos por DC, BIA e DEXA foram submetidos à análise do teste de Wilcoxon de postos sinalizados para análise da normalidade. Para identificar a associação entre os escores das DC e BIA com DEXA realizou-se o teste de correlação,



coeficiente de correlação de Pearson e teste *t* de Student. Para uma melhor visualização do comportamento das variáveis quantitativas IMC e DEXA, foram construídos gráficos de caixa – *Boxplot* (SOKAL & ROHLF, 1995). Para o processamento e análise dos dados, foram utilizados os programas estatísticos SPSS versão Trial 17.0 (SPSS, Inc., IL, EUA) e Minitab (Minitab, Inc., PA, EUA).

## 4 RESULTADOS

As características dos indivíduos que participaram deste estudo estão apresentadas na Tabela V.1. Observa-se que as voluntárias apresentaram, em média, 27,7 anos, massa corporal de 76,2 Kg, estatura de 1,63 cm e IMC de 28,5 Kg/m<sup>2</sup>. Os resultados do %GC por DEXA, DC e BIA apresentaram médias de 44,1%, 39,8% e 34,3%, respectivamente.

**Tabela V.1** - Características descritivas das voluntárias que participaram do estudo (n = 28).

Variável	Média±DP <sup>5</sup>	Extensão
Idade	27,74 ± 6,04	18 - 39
Massa corporal (Kg)	76,23 ± 10,78	60,50 - 99,70
Estatura (m)	1,63 ± 0,06	1,54 - 1,75
IMC <sup>1</sup>	28,49 ± 4,02	22,22 - 37,50
%G DEXA <sup>2</sup>	44,13 ± 3,71	37,50 - 53,50
%G DC <sup>3</sup>	39,79 ± 3,17	34,00 - 46,10
%G BIA <sup>4</sup>	34,40 ± 4,30	26,30 - 43,30

<sup>1</sup> IMC = Índice de massa corporal. <sup>2</sup> %G DEXA = Percentual de gordura medido por absorptometria radiológica de dupla energia. <sup>3</sup> %G DC = Percentual de gordura medido por dobras cutâneas. <sup>4</sup> %G BIA = Percentual de gordura medido por bioimpedância. <sup>5</sup> DP = desvio padrão.

Na Tabela V.2 estão apresentados os valores da média, desvio padrão, erro padrão da média, mediana e valores mínimos e máximos dos valores do %GC das voluntárias medidos por DEXA, DC e BIA. Observa-se que os valores de %GC variaram de 34,40% (BIA) a 44,13% (DEXA).

**Tabela V.2** – Percentual de gordura corporal estimado por DEXA, bioimpedância e antropometria.

Método	Média±DP	Extensão	Erro padrão da média	Mediana
%GC DEXA <sup>1</sup>	44,13 <sup>a</sup> ± 3,71	37,50 - 53,50	3,18	42,9
%G DC <sup>2</sup>	39,79 <sup>b</sup> ± 3,17	34,00 - 46,10	2,57	39,6
%G BIA <sup>3</sup>	34,40 <sup>c</sup> ± 4,30	26,30 - 43,30	3,50	42,9

<sup>1</sup> %GC DEXA = Percentual de gordura corporal medido por absorptometria radiológica de dupla energia. <sup>2</sup> %GC DC = Percentual de gordura corporal medido por dobras cutâneas. <sup>3</sup> %GC BIA = Percentual de gordura corporal medido por bioimpedância elétrica tetrapolar. Resultados com letras sobrescritas iguais não diferem entre si estatisticamente ( $p < 0,001$ ).

Acrescenta-se, ainda, que existe diferença significativa entre os valores da medição do %GC pelos três métodos (Tabela V.2). Em dois indivíduos a medição da DEXA foi menor do que a medição das DC, o que se explica pela flutuação aleatória da amostra.

Na Tabela V.3 está apresentada a comparação dos percentuais de gordura corporal obtidos pelos três diferentes métodos, assim como os valores de intercorrelação (correlação de Pearson). Observa-se que as diferenças foram bastante significativas ( $p < 0,001$ ) em todas as comparações.

**Tabela V.3** – Comparação dos percentuais de gordura corporal obtidos por três diferentes métodos de avaliação corporal.

Métodos	Diferença entre o %GC (média ± DP)	r	p
DEXA vs BIA	9,6 ± 2,6	0,811	*p < 0,001
DEXA vs DC	4,7 ± 2,8	0,715	*p < 0,001
DC vs BIA	4,9 ± 3,2	0,682	*p < 0,001

%GC = Percentual de gordura corporal. DEXA = Absortometria radiológica de dupla energia. BIA = Bioimpedância elétrica tetrapolar. DC = Dobras cutâneas. r = Correlação de Pearson. p = valor de p determinado pelo teste t de Student. \* = significativo. DP = Desvio padrão.

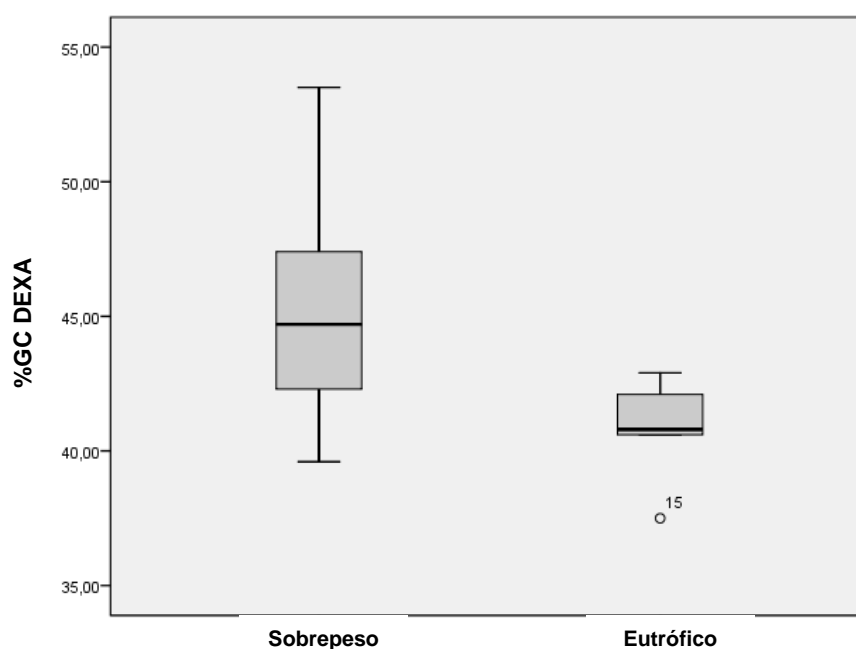
Os dados apresentados na Tabela V.4 indicam a existência da correlação entre o IMC e os percentuais de gordura corporal, estimados através de três diferentes métodos.

**Tabela V.4** – Correlação do IMC com os percentuais de gordura corporal, estimados através de três diferentes métodos.

	r
IMC vs %GC DEXA	0,851
IMC vs %GC BIA	0,847
IMC vs %GC DC	0,861

IMC = Índice de massa corporal. %G DEXA = Percentual de gordura medido por absorptometria radiológica de dupla energia. %G DC = Percentual de gordura medido por dobras cutâneas. %G BIA = Percentual de gordura medido por bioimpedância. r = Correlação de Pearson.

Na Figura V.1 está apresentada a comparação da classificação de sobrepeso e eutrofia por IMC com o %GC avaliado por DEXA.



**Figura V.1** – Comparação da classificação de sobrepeso e eutrofia por IMC, com o %GC avaliado por DEXA.

Pode-se observar na Figura acima que, na população estudada, foram encontrados indivíduos classificados como eutróficos pelo IMC ( $IMC < 24,99 \text{ Kg/m}^2$ ), porém com % GC superior a 30% (obesos, segundo a OMS, 2000).

## 5 DISCUSSÃO

Primeiramente, vale esclarecer que o grupo amostral utilizado não é populacional, não sendo representativo genericamente das mulheres jovens de Belo Horizonte. Contudo, buscou-se controlar a idade, estado nutricional e ciclo menstrual, a fim de uniformizar a amostra.

A avaliação do estado nutricional de adultos requer o conhecimento da reserva energética e da massa metabolicamente ativa dos indivíduos, o que se obtém por meio da avaliação da composição corporal (McARDLE *et al.*, 2003).

A DEXA é uma tecnologia relativamente nova na medida da composição corporal e de fácil execução, tendo sido primeiramente utilizada para avaliação da densidade e conteúdo mineral ósseo (DEFAVORI & SARRIÉS, 2007). É considerada uma técnica apropriada para estimar a composição corporal em mulheres jovens, por reduzir as interferências de idade, etnias e estado nutricional (WONG *et al.*, 2002). Vale ressaltar que existem três tipos de sistema de DEXA comumente em uso, o Hologic, o Norland e o Lunar DPX, sendo que eles apresentam diferenças em seus princípios físicos, configuração de hardware e software, calibração e/ou detecção na delimitação óssea (DEFAVORI & SARRIÉS, 2007).

O estudo de TOTHILL *et al.* (1994) comparou a GC por DEXA, utilizando os três tipos de sistemas citados acima. Os valores de GC medidos pelo Lunar DPX (similar ao do presente estudo) eram superestimados em relação ao Hologic. Segundo os autores, as diferenças encontradas podem, em parte, ser devido a diferenças nos padrões ou procedimentos de calibração.

A BIA é uma técnica de fácil aplicação e de alta reprodutibilidade, embora fatores como posição do indivíduo, colocação dos eletrodos, temperatura ambiente, nível de hidratação e atividade física, possam afetar essa medida (BAUMGARTNER *et al.*, 1991). Já, as medidas de DC são muito utilizadas na estimativa da gordura corporal, por serem relativamente simples, de baixo custo e aplicável em estudos de campo (BARBOSA *et al.*, 2001). Entretanto, REZENDE *et al.* (2007) ressaltaram que as estimativas de GC por DC, obtidas por equações da literatura, não apresentam a mesma acurácia quando utilizadas para outras populações que não para as quais foram validadas.

No presente trabalho foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os valores da medição do % GC em mulheres obesas por DEXA, BIA e DC (Tabela V.2), sendo que a DEXA forneceu os maiores valores (44,13%), seguida das DC (39,79%) e, finalmente, da BIA (34,4%). Estas diferenças nos resultados de estimativa

do %GC pelos métodos estudados eram esperadas, devido à heterogeneidade entre as técnicas, e corrobora com outras investigações, realizadas com diferentes grupos populacionais, e que também apresentaram diferenças nos resultados de estimativa do %GC (TOTHILL *et al.*, 1994; BARBOSA *et al.*, 2001; BOTTARO *et al.*, 2002; RECH *et al.*, 2005; SUN *et al.*, 2005). De forma semelhante ao presente trabalho, SUN *et al.* (2005) reportaram que a BIA forneceu valores inferiores de gordura corporal nos indivíduos classificados como obesos por DEXA.

O valor de %GC superestimado pelo DEXA pode ser explicado pela maior sensibilidade do método em relação às DC e a BIA (LASKEY, 1996), que possuem menor sensibilidade, devido a alguns fatores como suas equações preditivas que foram desenvolvidas e validadas em indivíduos caucasianos e em países desenvolvidos (BARBOSA *et al.*, 2001). Por outro lado, o fato de que os valores de %GC obtidos por DC serem maiores aos da BIA, poderia estar associado à dificuldade de pinçar a dobra de gordura em mulheres obesas (BOTTARO *et al.*, 2002).

Apesar das diferenças na estimativa da GC encontradas entre os métodos estudados, verificou-se que existe correlação ( $p < 0,001$ ) entre eles, como mostrado na Tabela V.3. Os dados desta tabela indicam, ainda, que esta correlação ( $r$ ) apresentou forte intensidade de associação, de acordo com o estabelecido por SAMPAIO (2002), pois todos os valores de  $r$  encontram-se próximos ou acima de 0,7.

Similar aos resultados encontrados neste estudo, na investigação de BARBOSA *et al.* (2001), com mulheres idosas e obesas, foi encontrado forte correlação entre DEXA e BIA ( $r = 0,85$ ), DEXA e DC (quando utilizada a equação de DURNING & WOMERSLEY, 1974) ( $r = 0,83$ ) e BIA e DC ( $r = 0,79$ ).

Outros estudos também sugerem boa correlação entre DC e DEXA ( $r \geq 0,7$ ) (OGLE *et al.*, 1995; PTCHARD *et al.*, 1997, WATTS *et al.*, 2006). Entretanto, dependendo do tipo de equação utilizada para a estimativa do percentual de gordura por DC e da característica da população estudada, a correlação entre DC e DEXA encontrada pode não ser adequada, como no trabalho de BARBOSA *et al.* (2001), que observaram baixa correlação entre DEXA e DC (calculada pela equação de JACKSON *et al.*, 1980) em uma amostra constituída de mulheres idosas.

No grupo estudado neste trabalho, foi verificada uma forte correlação entre os dados de IMC com os valores de %GC estimados por DEXA, BIA e DC, com valores de  $r$  acima de 0,8 (Tabela V.4). Estes resultados ratificam os já descritos em outras investigações publicadas na literatura, que também encontraram correlação entre o IMC

e a DEXA em diferentes grupos populacionais ( $r \geq 0,7$ ) (RECH *et al.*, 2006; BLEW *et al.*, 2002; WELLENS *et al.*, 1996).

Em estudo realizado no Rio de Janeiro, o IMC e a BIA foram significativamente correlacionados (os autores não indicaram o valor de  $r$ ) em um grupo formado de homens e mulheres adultos, não obesos (NUNES *et al.*, 2009). Em outro estudo realizado na Universidade Federal de Santa Catarina, foi, igualmente, encontrada uma boa correlação ( $r = 0,79$ ) entre o % GC medido por DEXA e o IMC em um grupo de mulheres de 55 a 77 anos, obesas (RECH *et al.*, 2006).

Estes resultados indicam que, apesar do IMC não ser um método específico para mensurar GC, possui uma boa correlação com o % GC, além de outras vantagens relatadas por SILVEIRA *et al.*(2006), como sendo um método de baixo custo e de alta reprodutibilidade.

O IMC foi, ainda, comparado com a DEXA no intuito de verificar a classificação de sobrepeso e eutrofia. Na população estudada no presente trabalho foram encontradas mulheres classificadas como eutróficas pelo IMC, porém com %GC acima de 30%, que são consideradas, portanto, obesas, segundo a OMS (2000) (Figura V.1).

Corroborando com estes resultados, RECH *et al.* (2006) constataram discordância nas prevalências de excesso de gordura em mulheres obesas, com idade entre 55 e 77 anos, avaliadas por DEXA e IMC. Enquanto a amostra apresentou 89,2% de excesso de gordura a partir do DEXA, a prevalência foi reduzida a 73,89%, quando analisados os escores do IMC.

Outros estudos publicados na literatura também demonstraram limitações do IMC nos indivíduos que apresentavam um IMC dentro do padrão de normalidade, mas com uma quantidade de gordura corporal acima do ideal. Assim, em investigação com homens e mulheres adultos com obesidade (%GC acima de 30%), foi encontrado 40% dos homens e 38% das mulheres com o IMC abaixo de 25 Kg/m<sup>2</sup>, eutróficos, de acordo com o índice (FRANKENFIELD *et al.*, 2001). CARRASCO *et al.* (2004) correlacionaram o IMC de homens e mulheres (obesos e não obesos) com o %GC, medido por BIA. Os autores demonstraram que, quanto menor o IMC, menor a sua correlação com o %GC.

Estes resultados confirmam que o IMC não é um bom marcador quantitativo da gordura corporal, podendo subestimar o percentual de gordura e classificar de forma errônea indivíduos com excesso de gordura corporal (WATTS *et al.*, 2006).

## 6 CONCLUSÃO

Este estudo revelou diferenças estatisticamente significativas entre os valores da medição do %GC obtidos por DEXA, DC e BIA, tendo a DEXA fornecido os maiores valores (44,13%), seguida das DC (39,79%) e da BIA (34,4%). O IMC apresentou forte associação com o DEXA, DC e BIA, ou seja, quanto maior o valor do % GC encontrado, maior foi o valor do IMC. Entretanto, foram encontrados indivíduos classificados como eutróficos pelo IMC, porém com o %GC acima de 30%.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, A.R.; SANTARÉM, J.M.; FILHO, W.J.; MEIRELLES, E.S.; MARUCCI, M.F.N. Comparação da gordura corporal de mulheres idosas. *Arc Lat Amer Nutr.*, v.51, n.1, p.49-56, 2001.

BAUMGARTNER, R.N. Electrical impedance and total body electrical conductivity. In: Roche, A.F.; Heymsfield, S.B.; Lohman, T.G. (Ed.) *Human body composition*. Champaign: Human Kinetics, 1996. p. 79-107.

BLEW, R. M.; SARDINHA, L.B.; MILLIKEN, L.A. *et al.* Assessing the validity of body mass index standards in early postmenopausal women. *Obe. Res.* v. 10, p. 799-808, 2002.

BOTTARO, M.F.; HEYWARD, V.H.; BEZERRA, R.F.A.; WAGNER, D.R.; Skinfold method vs dual-energy x-ray absorptiometry to assess body composition in normal and obese women. *J Exer Physiol.*, v. 5, n. 2, p. 11-18, 2002.

CARRASCO FN, REYES ES, RIMLER OS, RIOS FC. Exactitud del índice de masa corporal en la predicción de la adiposidad medida por impedanciometría bioeléctrica. *Arch Latinoam Nutr.*, v. 54, n. 3, p. 208-286, 2004.

DEFAVORI, C.G.; SARRIÉS, G.A. A correlação de métodos DEXA e CDEXA em absorptiometria mineral óssea. *Radiol bras*, v.40, n.3, p.183-187, 2007.

DURNIN, J.V.G.A., WOMERSLEY, J. Body fat assessment from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurement on 481 men and women age from 16 to 72 years. *Br. J. Nutr.*, v. 32, p. 77-97, 1974.

FLORINDO, A.; LATORRE, M.R.D.O.; SANTOS, E.C.M.; BORELLI, A.; ROCHA, M.S.; SEGURADO, A.A.C. Validação de métodos de estimativa da gordura corporal em portadores do HIV/Aids. *Rev Saúde Publ.*, v. 38, n. 4, p. 643-649, 2004.

FRANKENFIELD, D.S.; ROWE, W.A.; COONEY, R.N.; SMITH, J.S.; BECKER, D. Limits of body mass index to detect obesity and predict body composition. *Nutrition*, v. 17, n. 1, p. 26-30, 2001.

FREITAS, J.R.I.S.; RUPP, S.A.P.; GODOY, I.; SANTOS, S.M.S.; CAMPANA, A.O. Análise comparativa de métodos de avaliação da composição corporal em homens saudáveis e em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica: antropometria, impedância bioelétrica e absorptiometria de raios-X de dupla energia. *Arch Latinoam Nutr*, v. 55, 2005.

GLANER MF, ROSÁRIO WC. Validação cruzada de técnicas antropométricas para a estimativa da gordura corporal em homens. *Revista Digital - Buenos Aires - Año 10 - n 82*, 2005. Disponível em <<http://www.efdeportes.com/efd82/antrop.htm>>. Acesso em: 18 abr. 2009.

GLANER, M.F.; RODRIGUEZ, C.R.;A. Validação de equações para estimar a densidade corporal e/ou percentual de gordura para militares masculinos. *Trein Desportivo.*, v. 4, n. 3, p. 29-36, 1999.

HEYMSFIELD, S.B.; LOHMAN, T.; WANG, Z.M.; SCOTT, B. Going Human Body Composition. *Champaign: Human Kinetics*, p. 524, 2005.

HEYWARD VH, STOLARCZYK LM. Avaliação da composição corporal aplicada. São Paulo: Manole; 2000.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – PESQUISA DE ORÇAMENTO FAMILIAR (POF) 2002/2003 - Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional no Brasil, 2004.

JACKSON, A. S., POLLOCK, M. L., WARD, A. Generalized equations for predicting body density of women. *Med Sci Sports Exerc*. v. 12, n. 3, p. 175-182. 1980.

JELLIFFE, D.B. *Evaluacion del estado de nutrición de la comunidad*. Série de Monografias, n. 53. Geneva: OMS, 1968. 291 p.

KAMIMURA, M.A.; AVESANI, C.M.; CENDOROGLO, M.; CANZIANI, M.E.F.; DRAIBE, S.A.; CUPPARI, L. Comparison of skinfold thicknesses and bioelectrical impedance analysis with dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of body fat in patients on long-term haemodialysis therapy. *Nephrol Dial Transplant.*, v. 18, n. 1, p. 101-105, 2003.

LASKEY, M. A. Dual-energy x-ray absorptiometry and body composition. *Nutrition* 12: 45–51, 1996.

LOBO, G.S.; GUEVARA, D.L.; ZERBONE, A. Densitometria ósea em mulheres chilenas em idade fértil: correlación com valores referenciales y variables antropométricas. *Rev Med Chile*, v.132, p.681-690, 2004.

MALINA, R.M.; KATZMARZ, P.T. Validity of the body mass index as na indicator of the risk and presence of overweight in adolescents. *Am J Clin Nutr*, v.70, p.131-136, 1999.

McARDLE, W.D.; KATCH, F. I.; KATCH, V.L. *Fisiologia do exercício Energia, Nutrição e Desempenho Humano*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 113, 2003.

NORGAN, N.G. Laboratory and field measurements of body composition. *Public Health Nutr.*, v. 8, n. 7<sup>a</sup>, p.1108–1122, 2005.



NUNES, R.R.; CLEMENTE, E.L.S.; PANDINI, J.A.; COBAS, R.A.; DIAS, V.M.; SPERANDEI, S.; GOMES, M.B. Confiabilidade da classificação do estado nutricional obtida através do IMC e três diferentes métodos de percentual de gordura corporal em pacientes com diabetes melito tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 53, n. 3, p. 360-367, 2009.

OGLE, G.D.; ALLEN, J.R.; HUMPHRIES, I.R.; LU, P.W.; BRIODY, J.N.; MORLEY, K; HOWMAN-GILES, R.; COWELL, C.T. Body-composition assessment by dual-energy X-ray absorptiometry in subjects aged 4–26 y. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 61, p.746–753, 1995.

OMS – Organização Mundial da Saúde. World Health Organization (WHO). *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO Consultation. Technical Report Series 894. Geneva; 2000.

OMS - Organização Mundial da Saúde. *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas*. Série de informes Técnicos 797. Geneva: OMS, 1990, 229 p.

PICHARD, C.; KYLE, U.G.; JANSSENS, J.P.; BURDET, L.; ROCHAT, T.; SLOSMAN, D.O. *et al.* Body composition by X-ray absorptiometry and bioelectrical impedance in chronic respiratory insufficiency patients. *Nutrition*, v. 13, p. n.11-12, p. 952-958, 1997.

RECH, C.R.; PETROSKI, E.D.; SILVA, R.C.R.; SILVA, J.C.N. Indicadores antropométricos de excesso de gordura corporal em mulheres. *Rev Bras Med Esporte*, v.12, n.3, p.119-124, 2006.

REZENDE, F.; FRANCESCHINNI, L.R.; ROSADO, S.G.; RIBEIRO, R.; MARINS, J.C.B. Revisão crítica dos métodos disponíveis para avaliar a composição corporal em grandes estudos populacionais e clínicos. *ALAN*, v.57, n.4, 2007.

RICARDO, D.R.; ARAÚJO, C.G.S. Índice de massa corporal: um questionamento baseado em evidências. *Arq Bras Cardiol.*, v. 79, n. 1, p. 61-69, 2002.

RODRIGUES, M.N.; SILVA, S.C.; MONTEIRO, W.D.; FARINATTI, P.T.V. Estimativa da gordura corporal através de equipamentos de bioimpedância, dobras cutâneas e pesagem hidrostática. *Rev Bras Med Esporte*, v.7, n.4, p.125-131, Jul/Ago, 2001.

SALEM, M.; FERNANDES FILHO, J.; PIRES NETO, C.S. Desenvolvimento e validação de equações antropométricas específicas para a determinação da densidade corporal de mulheres militares do Exército Brasileiro. *Rev Bras Med Esporte.*, v. 10, n. 3, p. 141-146, 2004.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2 ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.

SCHOELLER DA, TYLAVSKY FA, BAER DJ, CHUMLEA WC, EARTHMAN CP, FUERST T, et al. QDR 4500A dual-energy X-ray absorptiometer underestimates fat mass in comparison with criterion methods in adults. *Am J Clin Nutr.*, v. 81, n. 5, p. 1018-1125, 2005.

SILVEIRA, D.; ESCRIVÃO, M.A.M.S.; TADDEI, J.A.A.S.; OLIVEIRA, F.L.C.; ANCONA-LOPES, F. Porcentagem de gordura corporal de adolescentes com excesso de peso, UNIFESP. *Instituto de metabolismo e nutrição*, 2006.

SIRI, W.E. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. In: *Techniques for Measuring Body Composition*, edited by J. Brozek and A. Henschel. Washington, DC: Natl. Acad. Sci. Natl. Res. Council, 1961, p. 223–224.

SOKAL, R.R.; ROHLF, E.F.J. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 2nd ed. New York: W. H. Freeman, 1995.

SUN, G.; FRENCH, C.R.; MARTIN, G.R.; YOUNGHUSBAND, B.; GREEN, R.C.; XIE, Y.; MATHEWS, M.; BARRON, J.R.; FITZPATRICK, D.G.; GULLIVER, W.; ZHANG, H. Comparison of multifrequency bioelectrical impedance analysis with dual-energy X-ray absorptiometry for assessment of percentage body fat in a large, healthy population. *Am J Clin Nutr.*, v. 81, n. 1, p; 74-78, 2005.

TOTHILL, P., A. AVENELL, J. LOVE, D. M. REID. Comparisons between Hologic, Lunar, and Norland dual-energy x-ray absorptiometers and other techniques used for whole-body soft tissue measurements. *Eur. J. Clin. Nutr.* v. 48, p. 781–794, 1994.

WATTS, K.; NAYLOR, L.H.; DAVIS, E.A.; JONES, T.W.; BEESON, B.; BETTENAY, F; SIAFARIKAS, A.; BELL, L.; ACKLAND, T.; GREEN, D.J. Do Skinfolds Accurately Assess Changes in Body Fat in Obese Children and Adolescents? *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 38, n. 3, 2006.

WONG, W.W.; HERGENROEDER, A.C.; STUFF, J.E.; BUTTE, N.F.; SMITH, E. O.B.; ELLIS, K.J.. Evaluating body fat in girls and female adolescents: advantages and disadvantages of dual-energy X-ray absorptiometry. *Am J Clin Nutr*, v. 76, p. 384-389, 2002.

## CAPÍTULO VI

# EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO, ADICIONADO À BEBIDA LÁCTEA, EM MULHERES OBESAS

## RESUMO

O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar o efeito da suplementação dietética do CLA, adicionado à bebida láctea, sobre a composição corporal, a taxa metabólica de repouso (TMR), a ingestão alimentar (IA) e os parâmetros bioquímicos, em um grupo formado por mulheres obesas. O experimento foi randomizado, duplo cego e com placebo controlado. Vinte e oito voluntárias ingeriram 400 mL de uma bebida láctea adicionada de 4 g de CLA por dia (mistura de cis9, trans11 CLA e trans10, cis12 CLA), ou placebo (óleo de canola), durante 16 semanas. A absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA) foi usada para avaliar a composição corporal no início e ao final da pesquisa, neste mesmo intervalo foram mensurados a IA e a TMR. Os parâmetros bioquímicos foram medidos nos meses 0, 1, 2, 3 e 4, e consistiram dos seguintes exames: glicose de jejum, colesterol total e suas frações (HDL, LDL, VLDL), triglicerídeos, além das transaminases (TGO, TGP e gama GT) e da proteína C reativa. A suplementação dietética de CLA, aqui realizada, não originou mudança significativa na composição corporal, na IA e na TMR das voluntárias. Ainda, o consumo de CLA não alterou os parâmetros bioquímicos avaliados, e não foi relatado qualquer efeito adverso, indicando que o consumo deste ácido graxo não é prejudicial à saúde, quando consumido nas condições aqui testadas.

**Palavras-chave:** ácido linoléico conjugado, composição corporal, parâmetros bioquímicos, mulheres obesas.

## 1 INTRODUÇÃO

O termo ácido linoléico conjugado (CLA) refere-se a um grupo de isômeros (posicionais e geométricos) do ácido linoléico, com as duplas ligações conjugadas (PARIZA *et al.*, 2001). O isômero cis9, trans11 CLA, também conhecido como ácido rumênico, é o predominante em alimentos, sendo a principal fonte a carne e o leite de animais ruminantes, visto que a sua produção endógena ocorre, principalmente, no trato digestivo destes animais (EVANS *et al.*, 2002). Já, a forma sintética é composta, em média, por 40% de cis9, trans11 CLA, 40% de trans10, cis12 CLA, 15% de outros isômeros, além do ácido linoléico e do ácido oléico (IP *et al.*, 2002).

O CLA tem sido reportado como agente antiaterogênico, anticarcinogênico, assim como modulador da composição corporal (WHALE *et al.*, 2004), reduzindo a massa gorda e aumentando a massa magra. Entre as hipóteses de ação do CLA para esta propriedade, está o aumento da taxa metabólica basal, a redução da ingestão calórica diária, além do aumento da lipólise e oxidação da gordura (WEST *et al.*, 1998; WANG & JONES 2004).

Estudos clínicos já foram realizados por outros autores abordando o efeito do CLA sobre a composição corporal, o consumo alimentar, a taxa metabólica de repouso (TMR) e diversos parâmetros bioquímicos. Entretanto, nenhum destes trabalhos foi realizado com mulheres obesas. Ainda, a maioria destes estudos utilizou o CLA em cápsula (BLANKSON *et al.*, 2000; BERVEN *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; THOM *et al.*, 2001; PETRIDOU *et al.*, 2003; GAULLIER *et al.*, 2004; TRICON *et al.*, 2004; WHIGHAM *et al.*, 2004; SMEDMAN *et al.*, 2005; LARSEN *et al.*, 2006; TAYLOR *et al.*, 2006; GAULLIER *et al.*, 2007; THOLSTRUP *et al.*, 2008; RAFF *et al.*, 2009). Alguns trabalhos utilizaram o CLA incorporado em uma matriz alimentar (MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007), entretanto nenhum relato foi encontrado na literatura abordando a incorporação do CLA em bebida láctea.

Os resultados destes estudos são contraditórios. Em relação à composição corporal, alguns autores não encontraram qualquer mudança nos componentes da composição corporal (ZAMBELL *et al.*, 2000; MEDINA *et al.*, 2000; MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006; NAZARE *et al.*, 2007), enquanto outros relataram alguma alteração, principalmente uma redução da gordura corporal (BLANKSON *et al.*, 2000; GAULLIER *et al.*, 2004; LASO *et al.*, 2007; RAFF *et al.*, 2009).

Quanto ao efeito do CLA sobre a ingestão alimentar (IA) e à taxa metabólica de repouso (TMR), os resultados dos trabalhos encontrados na literatura são divergentes, sendo que em alguns não foi encontrada qualquer mudança na IA (TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007) ou na TMR (PETRIDOU *et al.*, 2003; LAMBERT *et al.*, 2007; WHIGHAM *et al.*, 2004), enquanto que em outros, os autores encontraram alguma alteração significativa na IA (LARSEN *et al.*, 2006; RAFF *et al.*, 2009) ou na TMR (NAZARE *et al.*, 2007).

No que se refere aos parâmetros bioquímicos, a sua medida está associada à segurança da administração do CLA. Em alguns experimentos, foi observado um aumento da glicose de jejum (RISÉRIUS *et al.*, 2001; TRICON *et al.*, 2004), e alterações nos lipídeos séricos (GAULLIER *et al.*, 2004; TRICON *et al.*, 2004; LAMBERT *et al.*, 2007; THOLSTRUP *et al.*, 2008). Entretanto, na maioria dos trabalhos encontrados na literatura, a suplementação dietética com CLA não alterou a glicose de jejum, lipídeos séricos ou marcadores de inflamação (BLANKSON *et al.*, 2000; BERVEN *et al.*, 2000; PETRIDOU *et al.*, 2003; TAYLOR, *et al.*, 2006; TRICON *et al.*, 2006; GAULLIER *et al.*, 2007; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007).

Estes resultados inconclusivos podem ser devido à desigualdade no delineamento experimental, como o tempo de duração dos estudos (entre 14 semanas a 1 ano), à metodologia para medir a composição corporal, à forma de apresentação do CLA (cápsulas ou matriz alimentar), além das características do grupo populacional estudado (sexo, idade, composição corporal, entre outros). Sendo assim, fica claro a necessidade da realização de mais estudos, no intuito de se avaliar o efeito do CLA sobre a composição corporal de humanos e parâmetros bioquímicos.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação dietética do CLA, adicionado à bebida láctea, na composição corporal, taxa metabólica de repouso, ingestão calórica e parâmetros bioquímicos, em um grupo formado por mulheres obesas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

O leite fluido padronizado a 1,5% de gordura, o soro de leite fluido e o mix de ingredientes para bebida láctea sabor chocolate foram gentilmente fornecidos pela CEMIL. O óleo de canola foi adquirido no comércio de Patos de Minas – MG e o CLA (Clarinol<sup>®</sup> G 80), foi fornecido pela Lipid Nutrition (Wormerveer, Holanda). Na produção das bebidas lácteas foi usado o equipamento tri-blender Almix de 210 L e a planta de ultra alta temperatura (UAT), ambos da Tetra Pack (São Paulo, Brasil).

Para o experimento clínico foi usada a balança médica de plataforma com estadiômetro (modelo 31, Filizola, São Paulo, Brasil), com carga máxima de 150 Kg e precisão de até 0,1 Kg, o analisador de gás VO2000<sup>®</sup> (Medical Graphics Corporation, St. Paul, EUA) e o equipamento DEXA da marca Lunar, modelo DPX-IQ (Lunar Radiation Corporation, Madison, EUA).

## 2.2 MÉTODOS

### 2.2.1 Preparo das bebidas lácteas

Duas bebidas lácteas foram produzidas, em escala industrial, na CEMIL, e acondicionadas em embalagem Tetra Pack<sup>®</sup> de 200 mL, sendo uma adicionada de 2 g de CLA (BECLA), na forma de triacilglicerídeos (mistura de *cis*-9, *trans*-11-CLA e *trans*-10, *cis*-12-CLA) e outra contendo 2 g de óleo de canola (BECAN), mantendo-se o valor calórico e a distribuição de macronutrientes.

Inicialmente, o soro de leite foi adicionado ao leite, sob agitação constante (770 rpm), e esta mistura foi aquecida a 30°C sendo, em seguida, acrescentada do mix de ingredientes para bebida láctea sabor chocolate. Após 10 min, o CLA ou o óleo de canola foi adicionado (1g / 100 mL), ainda sob agitação, que foi mantida por mais 40 min. A bebida passou, então, pelo processo de ultra alta temperatura (UAT), onde foi homogeneizada (200 bar), esterilizada (145°C por 4 min), resfriada (30°C) e acondicionada em embalagem de 200 mL.

### 2.2.2 Escolha da população de estudo

Foram selecionadas, aleatoriamente, 28 mulheres obesas (percentual de gordura corporal maior do que 30), com idade entre 18 e 40 anos, recrutadas, de forma não probabilística, entre alunas e funcionárias de duas universidades de Belo Horizonte, Minas Gerais. Os critérios de exclusão abrangeram a presença de doenças crônicas como a hipertensão, o diabetes e as dislipidemias, assim como o uso de medicamentos controlados. Da mesma maneira, foram excluídas mulheres em fase de lactação e gestantes. As voluntárias foram informadas sobre o experimento clínico e os seus potenciais riscos e benefícios, e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes do início do estudo.

Ressalta-se que esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais (protocolo ETIC 400/05).

### 2.2.3 Delineamento experimental

As voluntárias foram divididas em dois grupos, um com a inclusão da BECLA e outro com a BECAN, denominados grupos CLA e placebo, respectivamente. As situações foram montadas em duplo velado, e cada voluntária foi orientada a ingerir 2 unidades por dia, em qualquer refeição, sendo que o experimento clínico teve duração de 16 semanas.

No início e ao final do experimento, as voluntárias passaram pelas seguintes avaliações: antropometria, consumo alimentar e taxa de metabolismo de repouso (TMR), realizadas no Laboratório de Fisiologia do Exercício do Uni-BH (Belo Horizonte, MG), e a absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA), no Laboratório *Hermes Pardini* (Belo Horizonte, MG). Para estas avaliações de antropometria, DEXA e TMR, foi solicitado que as voluntárias adotassem as seguintes recomendações: não realizar atividades físicas no dia anterior ao teste, não comer ou beber a menos de quatro horas do teste, urinar a menos de 30 min do teste, não consumir álcool a menos de 48 h antes do teste e não tomar medicamentos diuréticos a menos de sete dias do teste (HEYWARD & STOLARCZYK, 1996).

Ainda, foram realizados os exames bioquímicos de sangue, no Laboratório *Labclin* (Belo Horizonte, MG), no início do experimento (tempo zero), após 4, 8 e 12 semanas e ao final do tratamento (16 semanas), totalizando cinco medidas.

#### **2.2.4 Avaliação antropométrica**

A massa corporal foi obtida através de uma única medição, tendo o peso sido distribuído igualmente entre os pés, com a voluntária descalça e com o mínimo de roupas. A medida da estatura foi realizada de acordo com os procedimentos descritos por JELLIFFE (1968).

O cálculo do índice de massa corporal (IMC) foi realizado pela Equação 1 que relaciona o peso (kg) com a altura (m) ao quadrado, sendo que os pontos de cortes utilizados foram os propostos pela OMS (1990).

$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso(Kg)}}{\text{Altura}^2(\text{m})} \quad (1)$$

#### **2.2.5 Avaliação da composição corporal por absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA)**

A DEXA permitiu a avaliação dos seguintes componentes do organismo: gordura, músculos, água e densidade mineral óssea. Ainda, foi possível analisar a distribuição da gordura por regiões: braços, pernas e tórax.

Durante a avaliação, as voluntárias não portaram qualquer objeto metálico móvel ou acessório junto ao corpo, e permaneceram deitadas e imóveis sobre a mesa do equipamento, até a finalização da medida, em decúbito dorsal, com pés unidos e braços levemente afastados do corpo. Após a varredura do corpo inteiro, o equipamento forneceu as quantidades dos parâmetros que compõem a composição corporal.

#### **2.2.6 Avaliação do consumo alimentar**

As voluntárias foram instruídas a se alimentarem normalmente e a não modificarem sua dieta durante a realização do estudo. Para verificação desta recomendação, foi utilizado o diário alimentar de três dias (MAHAN & SCOTT-STAMP, 2005), incluindo pelo menos um dia de final de semana, realizado nos períodos antes do



início da suplementação (mês 0) e ao final do experimento (mês 4). O diário alimentar foi utilizado para o cálculo do valor energético total, utilizando o programa computadorizado Diet Win<sup>®</sup> (Brubins, Porto Alegre, Brasil).

### **2.2.7 Avaliação da taxa de metabolismo de repouso**

A taxa de metabolismo de repouso (TMR) foi obtida entre 6:30 h e 8:00 h da manhã, por calorimetria indireta de circuito aberto, em condições padrões de laboratório (temperatura e umidade controladas). Para se obter as medidas mais próximas possíveis de suas condições fisiológicas, as voluntárias foram orientadas a seguir o seguinte protocolo: dormir por pelo menos 8 h, permanecer em jejum por 12 h, não fazer uso de medicamento, álcool ou cafeína e não praticar nenhuma atividade física por 48 h antes das medições da TMR. Cada voluntária foi transportada para o local do teste em veículo motorizado para garantir mínima atividade antes da determinação da TMR. Em seguida, foi calmamente deitada na maca e conectada ao analisador de gases por um bocal, permanecendo imóvel, na posição supina, em estado de vigilância por 30 min. O equipamento foi calibrado antes do teste. O consumo de O<sub>2</sub> foi medido por 30 min e analisado em intervalos de 20 seg. Para o cálculo da TMR, as informações coletadas nos 5 min finais foram analisadas pelo software Aerograph<sup>®</sup> (Medical Graphics Corporation, St. Paul, EUA).

### **2.2.8 Avaliação dos parâmetros bioquímicos**

Esta avaliação compreendeu a determinação dos seguintes componentes: glicose de jejum, de colesterol total e suas frações (HDL, LDL, VLDL), de triglicerídeos, além das transaminases (TGO, TGP e gama GT) e da proteína C reativa. A coleta de sangue foi efetuada, após jejum de aproximadamente 12 h, por punção venosa na prega do cotovelo por um profissional treinado.

### **2.2.9 Avaliação de efeito adverso**

Um efeito adverso foi definido como sendo qualquer sintoma, relatado pelas voluntárias ou observado pelo pesquisador, relacionado ao sistema digestório (azia, má digestão, diarreia, flatulência) ou a um sinal de alergia (dermatites ou sintomas relacionados ao sistema respiratório). A avaliação deste efeito foi realizada por meio de questionário, respondido pelas voluntárias em encontros ocorridos uma vez por mês.

## **3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

A estatística descritiva foi utilizada para analisar as variáveis (SOKAL & JAMES ROHLF, 1995). As diferenças dentro dos grupos, do início ao final do experimento, foram avaliadas pela análise de variância e teste t pareado ( $p < 0,05$ ), já a análise de covariância ou teste de Wilcoxon não paramétrico foi utilizado para verificar as diferenças entre os grupos (SOKAL & JAMES ROHLF, 1995). Para o processamento e análise dos dados, foram utilizados os programas estatísticos SPSS versão Trial 17.0 (SPSS, Inc., IL, EUA) e Minitab (Minitab, Inc., PA, EUA).

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Caracterização da amostra**

Dentre as vinte e oito voluntárias que iniciaram o experimento clínico, quatro desistiram, duas do grupo CLA e duas do grupo placebo, tendo alegado razões pessoais. Desta forma, vinte e quatro mulheres terminaram o experimento, sendo doze em cada grupo. As principais características iniciais das voluntárias que participaram de todo o estudo clínico estão apresentadas na Tabela VI.1. Observa-se uma homogeneidade, não tendo sido observadas diferenças significativas entre os resultados obtidos para os dois grupos ( $p < 0,05$ ).

**Tabela VI.1** – Características físicas e composição corporal, das mulheres obesas, dos grupos placebo e CLA.

Características	Grupo Placebo (n = 12)		Grupo CLA (n = 12)	
	Média	DP	Média	DP
Idade (anos)	27,86	4,74	29,37	7,80
Altura (m)	1,66	0,05	1,63	0,06
Peso (Kg)	74,42	11,91	75,69	9,64
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27,10	4,12	28,72	3,93
Gordura Corporal (%)	43,38	3,58	45,17	4,02
Massa Gorda (Kg)	31,46	7,36	33,35	6,68
Massa Magra (Kg)	40,43	4,97	39,96	3,89
Densidade Mineral Óssea (g/cm <sup>2</sup> )	1,16	0,05	1,24	0,28

IMC = Índice de massa corporal. DP = desvio padrão.

#### 4.2 Composição corporal, consumo alimentar e taxa metabólica de repouso

Na Tabela VI.2, estão apresentados os valores obtidos para a composição corporal, o consumo alimentar e a taxa metabólica de repouso, no período do estudo, para os grupos placebo e CLA. Observa-se que não houve alterações de qualquer parâmetro analisado, uma vez que não foram encontradas diferenças significativas entre os resultados obtidos para os meses 0 e 4, para os dois grupos.

Ainda, comparando-se os resultados obtidos no mês 4 entre os grupos placebo e CLA, constata-se que nenhuma diferença significativa foi observada para qualquer um dos parâmetros analisados.

**Tabela VI.2** – Efeito da suplementação dietética com CLA, adicionado à bebida láctea, versus placebo sobre a composição corporal, o consumo alimentar e a taxa metabólica de repouso.

Parâmetros	Grupo Placebo				Grupo CLA			
	Mês 0		Mês 4		Mês 0		Mês 4	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Massa Corporal (Kg)	72,72	14,87	76,40	14,28	75,69	9,64	75,69	10,30
Massa Gorda (Kg)	31,46	7,36	31,24	7,10	33,35	6,68	33,55	7,29
Braços (Kg)	3,06	0,58	3,32	0,82	3,27	0,69	3,44	0,79
Pernas (Kg)	12,20	2,86	13,21	4,34	13,39	2,93	13,15	3,01
Tórax (Kg)	15,32	4,63	16,66	4,67	15,79	3,61	16,13	3,94
Massa Magra (Kg)	40,43	4,97	40,07	5,00	39,96	3,89	40,48	3,81
Gordura corporal (%)	43,38	3,58	43,45	3,78	45,17	4,02	44,91	4,22
Densidade Mineral Óssea (g/cm <sup>2</sup> )	1,16	0,05	1,16	0,05	1,24	0,28	1,14	0,06
Consumo alimentar (Kcal)	1767,77	501,98	1722,21	429,46	1853,09	244,13	1810,54	400,06
Taxa Metabólica de Repouso (Kcal)	1560,95	126,10	1408,02	202,65	1555,04	89,86	1443,70	221,27

Não foi encontrada diferença dentro do grupo entre o mês 4 e 0 (análise de variância e teste t pareado,  $p < 0,05$ ) e entre os grupos (análise de covariância ou teste de Wilcoxon,  $p < 0,05$ ).

### 4.3 Parâmetros bioquímicos

O efeito da suplementação dietética com CLA, adicionado à bebida láctea, versus placebo sobre a glicose de jejum, os lipídeos séricos, as transaminases e a proteína C reativa (PCR) está apresentado na Tabela VI.3.

**Tabela VI.3 - Efeito da suplementação dietética com CLA, adicionado à bebida láctea, versus placebo sobre a glicose de jejum, lipídeos séricos, transaminases e proteína C reativa.**

Parâmetros	Grupo Placebo										Grupo CLA									
	Mês 0		Mês 1		Mês 2		Mês 3		Mês 4		Mês 0		Mês 1		Mês 2		Mês 3		Mês 4	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Glicose (mg/dL)	80,22	8,87	76,8	15,15	79	15,67	78,91	13,56	69,18	12,93	85,33	9,89	74,11	11,15	82,11	11,95	86,89	12,97	74,14	10,57
Colesterol Total (mg/dL)	172,67	33,81	173,9	30,01	173,91	26,44	161,18	25,45	194,55	38,88	148,11	32,01	159,89	31,35	167,67	48,54	146,44	26,53	183,14	27,72
Colesterol HDL (mg/dL)	59,13	12,01	61,1	10,87	56,64	13,28	55,45	14,38	56,09	12,04	54,11	13,36	55,22	11,48	52,22	12,46	53	13,78	57,00	17,87
Colesterol LDL (mg/dL)	78,15	22,71	84,57	21,87	91,78	28,33	78,67	21,26	108,35	29,48	75,89	23,8	83,36	26,03	86,31	23,39	74,38	28,42	103,89	37,13
Colesterol VLDL (mg/dL)	27,73**	11,24	28,06**	17,93	24,58**	10,63	27,02**	9,01	30,11**	17,13	18,11**	6,63	21,27**	8,19	18,24**	3,7	19,07**	8,09	22,26**	7,5
Triglicérides (mg/dL)	129,82**	50,03	138,82**	85,21	127,55**	51,21	135,27**	45,02	153,82**	82,11	90,56**	33,16	106,33**	40,95	91,22**	18,48	95,33**	40,43	109,06**	36,65
TGO (U/L)	12,5	3,02	13	3,86	13,18	2,92	14,27	4,49	14,45	6,13	12,22	2,73	14,44	2,6	14,11	3,95	13	2,69	17,57	4,23
TGP (U/L)	13,5	4,96	15,5	6,42	13,81	3,06	15,36	4,8	13,27	2,41	11,67	2,92	15,67	3,39	13,44	4,88	14,11	3,79	13	2,94
Gama GT (U/L)	24	6,12	23,2	6,37	21,27	5,13	21,54	4,27	21,45	4,27	24,89	4,45	26,33	6,24	25,44	6,5	22,55	5,61	20,42	4,15
PCR (casos positivos)	7	-	2	-	1	-	1	-	4	-	4	-	1	-	0	-	0	-	2	-

DP = desvio padrão. \* Não foram observadas diferenças dentro do grupo entre o mês 4 e 0 (análise de variância e teste t pareado,  $p < 0,05$ ). \*\* Diferença entre os grupos (análise de covariância ou teste de Wilcoxon,  $p < 0,05$ ).

Os casos positivos de PCR se referem aos exames com valores superiores a 3 mg/L. Observa-se que não foram encontradas diferenças significativas para todos os parâmetros analisados, durante o período de estudo, para os dois grupos (placebo e CLA). Além disso, comparando-se os valores obtidos entre os dois grupos (placebo e CLA), em cada mês, conclui-se que nenhuma diferença significativa foi observada, em qualquer dos meses analisados.

#### 4.4 Efeito adverso

A bebida láctea foi bem tolerada e nenhum efeito adverso foi reportado pelas voluntárias durante o experimento clínico, tanto no grupo placebo como no CLA.

## 5 DISCUSSÃO

Diversos trabalhos foram encontrados na literatura abordando o efeito do CLA sobre a composição corporal em humanos, sendo que, na maioria deles, o CLA foi oferecido em cápsulas (BLANKSON *et al.*, 2000; BERVEN *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; THOM *et al.*, 2001; PETRIDOU *et al.*, 2003; GAULLIER *et al.*, 2004; TRICON *et al.*, 2004; WHIGHAM *et al.*, 2004; SMEDMAN *et al.*, 2005; TURPEINEN *et al.*, 2006; LARSEN *et al.*, 2006; TAYLOR *et al.*, 2006; GAULLIER *et al.*, 2007; LAMBERT *et al.*, 2007; THOLSTRUP *et al.*, 2008; RAFF *et al.*, 2009). Em apenas 4 estudos, o CLA foi adicionado a uma matriz alimentar (MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007), que, embora à base de leite, não corresponde exatamente à utilizada no presente trabalho.

Além disto, com relação ao grupo populacional estudado, a maior parte dos trabalhos foi realizada com homens e mulheres conjuntamente (BLANKSON *et al.*, 2000; BERVEN *et al.*, 2000; THOM *et al.*, 2001; GAULLIER *et al.*, 2004; WHIGHAM *et al.*, 2004; MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; SMEDMAN *et al.*, 2005; TURPEINEN *et al.*, 2006; LARSEN *et al.*, 2006; GAULLIER *et al.*, 2007; LAMBERT *et al.*, 2007; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007). Apenas 3 estudos foram realizados com mulheres (PETRIDOU *et al.*, 2003; THOLSTRUP *et al.*, 2008; RAFF *et al.*, 2009), porém em nenhum destes experimentos as mulheres eram obesas, como no trabalho em questão.

Ainda, observa-se na literatura que uma grande diversidade de métodos foi utilizada para avaliar as mudanças que o CLA pode promover na composição corporal, sendo o DEXA um dos mais sensíveis, e por isto, escolhido para acompanhar as voluntárias deste estudo, da mesma forma que em outros trabalhos (BLANKSON *et al.*, 2000; GAULLIER *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006; GAULLIER *et al.*, 2007; LAMBERT *et al.*, 2007; RAFF *et al.*, 2009). Entretanto, outros pesquisadores usaram as medidas das dobras cutâneas (PETRIDOU *et al.*, 2003), a bioimpedância elétrica (BERVEN *et al.*, 2000), FUTREX<sup>®</sup> (THOM *et al.*, 2001), BOD POD<sup>®</sup> (WHIGHAM *et al.*, 2004), além da combinação de mais de um método (TRICON *et al.*, 2004; TAYLOR *et al.*, 2006).

Por último, é importante ressaltar que a maioria dos estudos prévios tiveram duração de 3 a 4 meses (BLANKSON *et al.*, 2000; RISÉRIUS *et al.*, 2001; THOM *et al.*, 2001; MALPUECH-BRUGERE *et al.*, 2004; SMEDMAN *et al.*, 2005; NAZARE *et al.*, 2007; LASO *et al.*, 2007), como no presente trabalho, porém três ocorreram em um prazo maior, chegando a um ano de intervenção (GAULLIER *et al.*, 2004; WHIGHAM *et al.*, 2004; LARSEN *et al.*, 2006) e três tiveram o tempo de intervenção menor que 1 mês (RISÉRIUS *et al.*, 2001; PETRIDOU *et al.*, 2003; TURPEINEN *et al.*, 2006).

Os resultados obtidos no presente trabalho revelaram que a suplementação da dieta com CLA, adicionado a uma bebida láctea, durante 4 meses, não afetou a massa corporal, a massa gorda total e dos braços, das pernas e do tronco, além da massa magra e da densidade mineral óssea das voluntárias que participaram do experimento clínico. Este resultado está de acordo com os de outros autores, que também usaram alimento como matriz para testar os efeitos do CLA (MALPUECH-BRUGÈRE *et al.*, 2004; TRICON *et al.*, 2006; NAZARE *et al.*, 2007).

Apesar dos resultados semelhantes e da utilização do mesmo método para avaliar a composição corporal (DEXA), os trabalhos destes autores tiveram algumas diferenças no delineamento experimental, em relação do presente estudo, como o tipo de alimento e a população estudada. Assim, MALPUECH-BRUGÈRE *et al.* (2004) usaram leite fermentado adicionado de CLA (3g da mistura de isômeros e 1,5 g de isômero purificado) em um grupo de homens (n=45) e mulheres (n=45). NAZARE *et al.* (2007) testaram iogurte adicionado de CLA (3,76 g da mistura de isômeros), também em uma população de homens (n=22) e mulheres (n=22). Já, TRICON *et al.* (2006) avaliaram, em homens (n=32), o consumo de leite UHT, manteiga e queijo naturalmente enriquecidos com CLA (1,421 g x dia<sup>-1</sup>), por meio da modificação na ração das vacas. Em contrapartida, LASO *et al.* (2007), avaliaram o efeito do CLA, adicionado a leite, em homens (n=23) e mulheres (n=20) e encontraram uma redução na gordura corporal total

e na presente no tronco dos voluntários, resultado diferente do presente trabalho. Esta diferença poderia, provavelmente, se explicada pela composição do grupo populacional que no presente trabalho foi de sedentárias, enquanto que no estudo desses autores foi de pessoas fisicamente ativas.

Dentre os estudos que foram conduzidos com o CLA em cápsula, constatam-se, igualmente, divergências nos resultados sobre as mudanças na composição corporal dos voluntários, uma vez que alguns autores não encontraram qualquer tipo de mudança, enquanto que outros relataram alguma alteração. No primeiro caso, a suplementação de 3,4 g (BERVEN *et al.*, 2000) e 3,9 g (LAMBERT *et al.*, 2007) de CLA por 12 semanas não alterou qualquer componente da composição corporal de homens e mulheres com sobrepeso. Da mesma maneira, a suplementação de CLA em uma dose maior ( $6\text{g} \times \text{dia}^{-1}$ ) por um período de tempo mais longo (52 semanas) não provocou mudanças na gordura corporal ou massa magra, também em uma população de homens e mulheres com sobrepeso (WHIGHAM *et al.*, 2004). Em outra pesquisa, os autores testaram os dois principais isômeros do CLA purificados (cis9, trans11 CLA e trans10, cis12 CLA) em diferentes doses e não encontraram alterações na composição corporal de homens e mulheres (TRICON *et al.*, 2004). Apesar das diferenças metodológicas e de delineamento experimental, estes trabalhos corroboram com os resultados encontrados no presente estudo.

Por outro lado, ao contrário dos resultados aqui obtidos, foram encontrados na literatura experimentos que registraram algum efeito da ingestão de CLA sobre a composição corporal, nos quais este ácido graxo foi usado na forma de cápsulas. Desta forma, GAULLIER *et al.* (2007) avaliaram o efeito de  $3,4\text{g} \times \text{dia}^{-1}$  de CLA em uma população mista ( $n=83$ ) de adultos com sobrepeso, durante 6 meses e encontraram redução no percentual de gordura corporal, principalmente nas pernas, e um aumento da massa magra, sem nenhuma mudança na massa corporal.

Ainda, a suplementação de 4,5 g (GAULLIER *et al.*, 2004) e 3,4 g (LARSEN *et al.*, 2007) de CLA em adultos (homens e mulheres), com sobrepeso, por um período de 1 ano, foi eficiente para reduzir o percentual de gordura e a massa corporal, além de aumentar a massa magra. É importante considerar que estes experimentos clínicos foram conduzidos com uma população mista numerosa ( $n=180$  e  $101$ , respectivamente) e por um longo período de tempo (1ano), sendo, portanto, de difícil controle dos voluntários (dieta, atividade física entre outros), podendo levar a erros de interpretação.

RAFF *et al.* (2009), reportaram uma redução da massa gorda e um aumento da massa magra das pernas, porém estes autores usaram uma dose de  $5,5\text{g} \times \text{dia}^{-1}$  de



CLA, por um período de 4 meses, em um grupo formado apenas por mulheres (pós menopausa) com sobrepeso.

Em dois estudos, os autores encontraram apenas redução do percentual de gordura corporal, sem nenhuma outra alteração da composição corporal, sendo que BLANKSON *et al.*, (2000) testaram várias doses de CLA (1,7 a 6,8 g x dia<sup>-1</sup>), enquanto que THOM *et al.* (2001) usaram uma única dose (1,8 g x dia<sup>-1</sup>). Nos dois trabalhos o período de intervenção foi de 12 semanas e a população foi formada de homens e mulheres, porém, no segundo experimento, os voluntários tinham peso normal e praticavam atividade física, enquanto no primeiro, tinham sobrepeso e eram sedentários.

As divergências encontradas nos resultados entre os trabalhos supracitados e o presente estudo podem ser explicadas pelas diferenças no delineamento experimental, na metodologia utilizada e, principalmente na composição da população, que no estudo atual foi formado apenas por mulheres jovens (até 39 anos) sedentárias e com sobrepeso.

Quanto à taxa metabólica de repouso (TMR) e à ingestão alimentar (IA), a medida destes 2 parâmetros no presente trabalho foi realizada, uma vez que, segundo alguns autores (WEST *et al.* 1998; TERPSTRA, 2001; WANG & JONES 2004; NAZARE *et al.*, 2007), uma das hipóteses apresentadas para explicar os mecanismos de ação do CLA na redução do tecido adiposo e no aumento da massa magra estaria associada ao aumento da TMR e à redução da IA. Entretanto, as condições experimentais aqui utilizadas não afetaram estes 4 parâmetros durante os 4 meses de estudo.

Nos trabalhos encontrados na literatura, abordando o efeito do CLA sobre a IA e a TMR, os resultados são divergentes, visto que em alguns não há o registro de qualquer mudança nestes parâmetros, enquanto que em outros há o relato de alguma mudança. Com relação à IA, apenas 13, dos 20 trabalhos encontrados avaliaram este item, e no caso da TMR este número é ainda menor, sendo que apenas 3 investigaram este parâmetro.

Dentre os experimentos que usaram uma matriz alimentar para testar o efeito do CLA, 3 avaliaram a IA, e apenas um a TMR. Nenhum relatou mudança na IA (TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007), como no presente trabalho. Quanto à TMR, NAZARE *et al.* (2007), encontraram um ligeiro aumento nos sujeitos que consumiram CLA por 98 dias, resultado diferente do estudo atual.

No caso dos estudos que usaram CLA em cápsulas, 10 avaliaram IA e apenas dois a TMR. Assim, LAMBERT *et al.* (2007) e WHIGHAM *et al.* (2004), não encontraram alterações nestes parâmetros, resultados semelhantes ao do presente trabalho. Nos

outros experimentos apenas a IA foi avaliada, sendo que 6 não verificaram alteração neste parâmetro (PETRIDOU *et al.*, 2003; GAULLIER *et al.*, 2004, 2007; SMEDMAN *et al.*, 2005; TURPENEIN *et al.*, 2006; THOLSTRU *et al.*, 2008). Em contrapartida, LARSEN *et al.* (2006) e RAFF *et al.* (2009) verificaram uma redução significativa na IA nos voluntários que consumiram o CLA.

Com relação aos parâmetros bioquímicos, é importante ressaltar que as medidas da glicose de jejum e das transaminases estão associadas à questão da segurança da administração do CLA, uma vez que podem ocorrer aumento da resistência à insulina (RISÉRIUS *et al.*, 2001) e alterações no fígado (TSUBOYAMA-KASAOKA *et al.*, 2000). Entretanto, no presente estudo, nenhuma alteração significativa foi observada nestes dois parâmetros durante os 4 meses de estudo.

Em estudos da literatura, nos quais foi utilizado matriz alimentar e delineamento experimental diferentes do presente trabalho, resultados semelhantes foram encontrados, não tendo sido relatadas modificações nestes dois parâmetros (TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007). Mesmo quando o CLA foi ingerido na forma de cápsulas por um período de 1 ano, a segurança de sua administração foi confirmada pela manutenção destes parâmetros ao longo do estudo (GAULLIER *et al.*, 2004; WHIGHAM *et al.*, 2004).

Entretanto, em 2 estudos nos quais o CLA foi fornecido na forma de cápsulas, foi verificado um aumento da glicose em jejum, indicando um efeito negativo do CLA sobre a glicemia de jejum de homens com sobrepeso (RISÉRIUS *et al.*, 2001; TRICON *et al.*, 2004). Acrescenta-se, ainda, que a ingestão do isômero trans10, cis12 CLA deu origem a uma maior elevação na glicemia de jejum que o grupo que ingeriu a forma cis9, trans11 CLA (TRICON *et al.*, 2004).

Outro ponto levantado sobre a segurança da suplementação dietética com CLA refere-se aos marcadores de doenças cardiovasculares, tais como os lipídeos séricos e a proteína C reativa (PCR). Ressalta-se que no presente trabalho nenhuma mudança no perfil lipídico plasmático e na PCR foi identificada ao longo dos 4 meses de estudo. Na literatura são encontrados trabalhos com resultados abordando o efeito do CLA sobre os lipídeos séricos e marcadores inflamatórios. Assim, são encontradas referências relatando redução (LAMBERT *et al.*, 2007; THOLSTRUP *et al.*, 2008) ou aumento (GAULLIER *et al.*, 2004) do HDL colesterol, aumento do LDL colesterol (GAULLIER *et al.*, 2004; TRICON *et al.*, 2004) ou nenhum efeito sobre o colesterol total e suas frações ou triglicerídeos (TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007), sendo estes últimos semelhantes ao presente trabalho.

Dentre os experimentos que usaram uma matriz alimentar para testar os efeitos do CLA sobre estes marcadores, nenhum avaliou a PCR, e 3 estudaram o comportamento dos lipídeos séricos (TRICON *et al.*, 2006; LASO *et al.*, 2007; NAZARE *et al.*, 2007), sendo que nestes estudos também não foram encontradas alterações nestes parâmetros, da mesma forma que no presente trabalho. Da mesma maneira, nos estudos desenvolvidos com o CLA em cápsulas, TAYLOR *et al.* (2006) e GAULLIER *et al.* (2007) não verificaram qualquer mudança nos lipídeos séricos e na PCR, como no presente trabalho. Em outros experimentos, os pesquisadores avaliaram os lipídeos séricos, mas não a PCR. Sendo assim, BLANKSON *et al.* (2000), BERVEN *et al.* (2000) e PETRIDOU *et al.* (2003) não verificaram qualquer modificação no colesterol total, suas frações e nos triglicerídeos.

Finalmente, ressalta-se que esta pesquisa corrobora com estudos prévios, com baixa desistência de voluntários, indicando que a suplementação dietética com CLA é bem tolerada (GAULLIER *et al.*, 2004; GAULLIER *et al.*, 2007). Apesar de experimentos com camundongos terem revelado um aumento da deposição de gordura no fígado no grupo que consumiu o CLA (TSUBOYAMA-KASAOKA *et al.*, 2000; CLEMENT *et al.*, 2002), nenhum efeito adverso foi relatado pelas voluntárias, indicando que o consumo de CLA, adicionado à bebida láctea, foi seguro nas condições aqui testadas. Por outro lado, foram observados alguns sintomas, em outros estudos com humanos, embora em pequeno grau, especialmente com relação ao sistema digestório (BLANKSON *et al.*, 2000; THOM *et al.*, 2001; GAULLIER *et al.*, 2004). Mas mesmo nestes casos, o efeito adverso foi constatado tanto no grupo CLA como no placebo.

## **6 CONCLUSÃO**

A suplementação dietética de mulheres obesas com 4 g de CLA, adicionado à bebida láctea, durante 16 semanas, não alterou significativamente a composição corporal, a ingestão alimentar, a taxa metabólica de repouso e os parâmetros bioquímicos avaliados. Além disso, não foi observado efeito adverso nas voluntárias, durante o período de estudo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERVEN, G.; BYE, A.; HALS, O.; BLANKSON, H.; FAGERTUM, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or obese human volunteers. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, v. 102, p. 455– 462, 2000.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *Journal of Nutrition*, v. 130, p.2943-2948, 2000.

EVANS, M. E.; BROWN, J. M.; McINTOSH, M. K. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v.13, p.508-516, 2002.

GAULLIER, J. M.; HALSE, J.; HØYE, K.; KRISTIENSEN, K.; FARGENTUN, H.; VIK, H.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 year reduces body fat mass in healthy overweight humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, p. 1118-1125, 2004.

GAULLIER, J. Supplementation with Conjugated Linoleic Acid for 24 Months Is Well Tolerated by and Reduces Body Fat Mass in Healthy, Overweight Humans. *J. Nutr.* v.135, p. 778–784, 2007.

HEYWARD VH, STOLARCZYK LM. Avaliação da composição corporal aplicada. São Paulo: Manole; 2000

IP, C.; DONG, Y.; IP, M. M.; BANNI, S.; CARTA, G. Conjugated linoleic acid isomers and mammary cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, 2002.

JELLIFFE, D.B. Evaluacion del estado de nutrición de la comunidad. Geneva: OMS, 1968. 291 p. Série de Monografias, n. 53.

LARSEN, T. M. Conjugated linoleic acid supplementation for 1y does not prevent weight or body fat regain. *Am J Clin Nutr*, v. 83, p. 606-612, 2006

LASO, N.; BRUGUÉ, E.; VIDAL, J.; 2, ROS, E.; ARNAIZ, J.A.; CARNÉ, X.; VIDAL, S.; MAS, S.; DEULOFEU, R.; LAFUENTE, A. Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid (isomers cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12) on body composition and metabolic syndrome components. *British J. Nutr.*, v. 98, p. 860–867, 2007.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STAMP, S. *Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. 12<sup>a</sup> Ed. Editora Elsevier. 2005 1358p.

MALPUECH-BRUGERE, C.; VERBOEKET-VAN DE VENNE, W. P.; MENSINK, R. P.; ARNAL, M. A; MORIO, B.; BRANDOLINI, M.; SAEBO, A.; LASSEL, T. S.; CHARDIGNY, J. M.; SEBEDIO, J. L.; BEAUFRERE, B. Effects of two conjugated linoleic acid on body fat mass in overweighth humans. *Obesity Research*, v. 12, p. 591-598, 2004.

MEDINA, E.A.; HORN, W.F.; KEIMN, N.L.; HAVEL, P.J.; BENITO, P.; KELLEY, D.S.; NELSON, G.J.; ERICKSON, K.L. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effect on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids*, v. 35, p. 783–788, 2000.

NAZARE, J.A.; DE LA PERRIERE, A.B.; BONNET, F.; DESAGE, M.; PEYRAT, J.; MAITREPIERRE, C.; LOUCHE-PELISSIER, C.; BRUZEAU, J.; GOUDABLE, J.; *et al.* Daily intake of conjugated linoleic acid-enriched yoghurts: effects on energy metabolism and adipose tissue gene expression in healthy participants. *Br J Nutr.*, v. 97, p. 273–280, 2007.

OMS -Organización Mundial de Salud.. *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas*. Geneva: OMS, 1990, 229 p. Série de informes Técnicos 797.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, v. 40, p. 283-298, 2001.

PETRIDOU, A.; MOUGIOS, V.; SAGREDOS, A. Supplementation with CLA: isomer incorporation into serum lipids and effect on body fat of women. *Lipids*. v. 38, n. 8, p. 805–811, 2003.

RAFF, M.; THOLSTRUP, T.; TOUBRO, S.; BRUUN, J.M.; LUND, P.; STRAARUP, E.M.; CHRISTENSEN, R.; SANDBERG, M.B.; MANDRUP, S. Conjugated Linoleic Acids Reduce Body Fat in Healthy Postmenopausal Women. *J. Nutr.* v. 139, p. 1–6, 2009.

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 randomised controlled trial. *International Journal of Obesity*, v. 25, p.1129-1135, 2001.

SMEDMAN, A.; BASU, S.; JOVINGE, S.; FREDRIKSON, G.N.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid increased C-reactive protein in human subjects. *Brit.J. Nutr.*, v. 94, p. 791–795, 2005.

SOKAL, R.R.; ROHLF, E.F.J. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 2nd ed. New York: W. H. Freeman, 1995.

TAYLOR, J.S.W.; WILLIAMS, S.R.P.; RHYS, R.; JAMES, P.; FRENNEAUX, M.P. Conjugated linoleic acid impairs endothelial function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* available at <http://www.atvbaha.org>, 2006.

THOLSTRUP, T.; RAFF, M.; STRAARUP, E.M.; LUND. P.; BASU, S.; BRUUN, J.M. An oil mixture with trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid increases markers of inflammation and in vivo lipid peroxidation compared with cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in postmenopausal women. *J Nutr.*, v. 138, p. 1445–1451, 2008.

THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. *J. Int. Med. Res.*, v. 29, p. 392–396, 2001.

TRICON, S.; BURDGE, G.; KEW, S.; BANERJEE, T.; TUSSELL, J.; JONES, E.; GRIMBLE, R.; WILLIAMS, C.; YAQOUB, P.; CALDER, P. Opposing effects of cis-9,

trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 80, p. 614–620, 2004.

TRICON, S.; BURDGE, G.C.; JONES, E.L.; RUSSELL, J.J.; EL-KHAZEN, S.; MORETTI, E.; HALL, W.L.; GERRY, A.B.; LEAKE, D.S.; GRIMBLE, R.F.; WILLIAMS, C.M.; CALDER, P.C.; YAQOOB, P. Effects of dairy products naturally enriched with *cis*-9,*trans*-11 conjugated linoleic acid on the blood lipid profile in healthy middle-aged men. *Am J Clin Nutr.*, v. 83, p. 744 –753, 2006.

TSUBOYAMA-KASAOCA, N.; MIYAZAKI, H.; KASAOCA, S.; ESAKI, O. Increasing the amount of fat in a conjugated linoleic acid supplemented diet reduces lipodystrophy in mice. *Journal of Nutrition*, v. 133, p. 1793-1799, 2003.

WANG, Y.; JONES, P. Conjugated linoleic and obesity control: efficacy and mechanisms. *Inter. J. Obes.*, v. 25, p. 941–955, 2004.

WEST, D. B.; DeLANY, J. P.; CAMET, P. M.; BLOHM, F.; TRUETT, A. A.; SCIMECA, J. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *American Journal of Physiology*, v. 275(3 Pt 2), p. R667-672, sep, 1998.

WHALE, K. W. J.; HEYS, S. D.; ROTONDO, D. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research*, v. 43, p.553-587, 2004.

WHIGHAM, L. D.; O'SHEA, M.; MOHEDE, I. C. M.; WALASKI, H. P.; ATKINSON, R. L. Safety profile of conjugated linoleic acid in a 12-month trial in obese humans. *Food and Chemical Toxicology*, v.42, p. 1701-1709, 2004.

## CONCLUSÕES INTEGRADAS

Este trabalho demonstrou que o desenvolvimento de um novo produto alimentício é complexo, multidisciplinar, que envolve as etapas de testes laboratoriais e industriais. As bebidas lácteas sabor chocolate produzidas neste estudo, passaram por estas fases, resultando em um produto final com características nutricionais e sensoriais adequadas ao consumo.

Inicialmente, foi feito um estudo da estimativa do consumo de CLA no Brasil, que foi de  $108 \text{ mg.g}^{-1}$  de gordura, usando como alimentos-fontes o leite de vaca e seus derivados (queijo, iogurte, creme de leite, leite condensado e manteiga), além da carne de gado bovino. Foram utilizados os dados obtidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, por meio da Pesquisa de Orçamentos Familiares (2002-2003). Este levantamento serviu de base para a escolha do alimento desenvolvido neste trabalho.

Na etapa laboratorial foi possível realizar testes para reduzir os erros de processo na indústria. Primeiro, determinou-se a melhor forma de incorporação do CLA ao meio, que, por ser um óleo, necessitou de tecnologia adequada para evitar a separação das fases. Desta forma, o uso do liquidificador doméstico (velocidade 1, 11.500 rpm, por 3 min) foi mais eficiente que o ultraturrax (11.000 rpm, por 5 min), que resultou em uma bebida mais estável, avaliada por inspeção visual e por microscopia ótica. Por este método, foi possível verificar que, o tamanho das gotículas de gordura variou de  $2,28 \mu\text{m}$  a  $11,80 \mu\text{m}$ .

Ainda no laboratório, a análise sensorial foi utilizada para determinar a quantidade ideal de adição do CLA à bebida láctea sabor chocolate, para que este procedimento não reduzisse a aceitação do produto. No teste triangular, 60% da população conseguiu diferenciar o sabor do CLA, indicando que a incorporação desta substância neste alimento deve ser feita com cautela. Este fato foi comprovado no teste de aceitação, onde a bebida láctea adicionada de óleo de canola (BECAN) foi preferida àquela contendo CLA (BECLA). Desta forma, o mesmo teste foi aplicado com bebidas contendo apenas CLA, sendo uma com a mesma concentração utilizada na etapa anterior e outra com a metade desta quantidade. A BECLA 1,25% foi preferida em relação à BECLA 2,5%.

A partir dos resultados obtidos no desenvolvimento laboratorial da BECLA e da BECAN (capítulos II e III), estas bebidas foram produzidas em larga escala e foi realizado o estudo das suas características químicas, da estabilidade oxidativa e da

aceitação final. A BECAN apresentou o maior valor calórico e os maiores teores de proteínas e carboidratos em relação à BECLA, que obteve maior teor de lipídeos. Os valores de cinzas e umidade foram semelhantes para as duas bebidas. Da mesma maneira, não houve diferença estatística entre os valores de pH e de TBARS para a BECLA e BECAN, indicando que a adição de CLA ou óleo de canola não alterou a estabilidade do produto, durante o período do estudo. A aceitação da BECLA e da BECAN foi semelhante, e maior que a da bebida comercial, utilizada neste estudo, como comparação. Este resultado difere do encontrado para as amostras desenvolvidas no laboratório (capítulo III), que pode ser devido aos equipamentos utilizados na indústria, principalmente o homogeneizador, que reduz as gotículas de gordura e as distribui melhor no produto final, podendo levar a uma melhor aceitação da bebida frente aos consumidores.

A escolha do método de avaliação da composição corporal depende do público que será avaliado, dos recursos disponíveis, entre outros fatores. No caso de mulheres obesas, foi possível verificar que as dobras cutâneas são de difícil mensuração, podendo levar a erros de leitura. Para esta população, a DEXA apresentou maior sensibilidade, seguida das DC e BIA, sendo que todas as técnicas forneceram valores fortemente associados ao IMC. Apesar disto, foram encontrados indivíduos classificados como eutróficos por este método, com o %GC acima de 30%.

A suplementação dietética de CLA, adicionado a de uma bebida láctea sabor chocolate, não originou mudança significativa na composição corporal, na IA e na TMR das voluntárias. Ainda, não ocorreu alteração nos parâmetros bioquímicos avaliados, e não foi relatado qualquer efeito adverso, indicando que o consumo deste ácido graxo não é prejudicial à saúde, quando consumido nas condições aqui testadas.