

Efeito da Suplementação de Lipídios na Ração sobre a Produção de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) e a Composição da Gordura do Leite de Vacas¹

Ferlando Lima Santos², Marco Túlio Coelho Silva³, Rogério de Paula Lana⁴,
Sebastião César Cardoso Brandão³, Luiz Henrique Vargas⁵, Luiz Ronaldo de Abreu⁶

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de fontes de lipídios (soja integral moída ou óleo de soja) adicionados à dieta sobre o perfil de ácidos graxos da gordura do leite, especialmente sobre o aumento do CLA. Foram utilizadas 6 vacas multíparas 7/8 holandês-zebu, 30 dias após o parto, com peso vivo médio de 500 kg e produção média de 20 quilos de leite ao dia. Os animais foram divididos em três grupos para recebimento das dietas (tratamentos), isoprotéicas e isoenergéticas, em que o tratamento controle continha 3% de extrato etéreo na ração total e os demais 7%. Os tratamentos contendo fontes de lipídios, quando comparados com o controle, diminuíram o percentual de ácidos graxos de cadeia curta e diminuíram os teores dos ácidos butírico, capríco, caprílico, cáprico, láurico, mirístico e o percentual de ácidos graxos saturados. Os mesmos tenderam, ainda, a reduzir os teores de ácido palmítico e palmitoléico e tenderam a aumentar o percentual de ácidos graxos insaturados e de cadeia longa. Por outro lado, esses tratamentos aumentaram o teor de ácido esteárico e tenderam a aumentar os teores de ácido oléico e CLA. O óleo de soja, comparado ao grão de soja moído, diminuiu os teores de ácido linoléico e linolênico e aumentou o CLA, tendeu a aumentar o teor de ácidos graxos não identificados e a diminuir os ácidos graxos saturados. Concluindo, a inclusão de óleo de soja na dieta, e não soja grão, aumenta o teor de CLA na gordura do leite.

Palavras-chave: ácido linoléico conjugado, gordura, leite, lipídios, ração, vacas

Effect of Lipids Supplementation in the Ration on Production of Conjugated Linoleic Acid (CLA) and Milk Fat Composition of Dairy Cows

ABSTRACT - The objective of this work was to verify the effects of lipid sources (ground soybean and soybean oil) added to the diet on the fatty acids profile of milk fat, specially in the increasing of CLA. Six multiparous 7/8 Holstein-Zebu cows, 30 days after calving, with average body weight of 500 kg and average milk production of 20 kg/day, were used. The animals were divided in three groups in order to receive isoprotein and isocaloric diets (treatments), in which control diet had 3% ether extract in total dry matter and the others 7%. Comparing to the control one, the treatments containing supplementar lipids, decreased the percentage of short chain fatty acids and decreased the content of butyric, caproic, caprylic, capric, lauric, miristic and the percentage of saturated fatty acids. There was still a trend for reduction in the content of palmitic and palmitoleic acids and a trend for increasing the percentage of unsaturated fatty acids and long chain fatty acids. Supplementar lipids increased stearic acid and tended to increase oleic acid and CLA. Soybean oil, compared to ground soybean, decreased the content of linoleic and linolenic acids and increased CLA, tended to increase the content of unidentified fatty acids and tended to decrease the saturated fatty acids. In conclusion, adding soybean oil and not crushed soybean in the diet increased the content of CLA in milk fat.

Key Words: conjugated linoleic acid, cows, lipids, milk, ration, supplementary fat

Introdução

A descoberta de novos componentes naturais em alimentos com propriedades anti carcinogênicas é atualmente um importante elemento na estratégia de prevenção do câncer. A maioria das substâncias naturais que exibem atividade anti carcinogênicas é originada de plantas. Uma exceção é o ácido linoléico conjugado (CLA), um ácido

graxo que está presente em altas concentrações na gordura do leite (PARODI, 1994).

Ácido linoléico conjugado é um termo que descreve os isômeros geométricos do ácido linoléico. A conjugação da ligação dupla é geralmente nas posições 9 e 11 ou 10 e 12, podendo ser configuração cis ou trans (KEPLER et al., 1966; PARODI, 1977; IP et al., 1994). Mais de 80% do CLA presente nos produtos lácteos está na forma de isômeros cis-9 e

¹ Parte da tese de Mestrado do primeiro autor.

² Estudante de Mestrado em Tecnologia de Alimentos - UFV; bolsista da CAPES. E-mail: flsantos@alunos.ufv.br

³ Professor do Departamento de Tecnologia de Alimentos - UFV - 36.571-000 - Viçosa - MG. E-mail: mtulio@mail.ufv.br; sbrandao@mail.ufv.br

⁴ Professor do Departamento de Zootecnia - UFV - 36.571-000 - Viçosa - MG; Bolsista do CNPq. E-mail: rlana@mail.ufv.br

⁵ Estudante de Mestrado em Zootecnia - UFV; bolsista da CAPES.

⁶ Professor do Departamento de Ciência dos Alimentos - UFLA - Lavras - MG.

trans-11, que são as formas biologicamente ativas do CLA (CHIN et al., 1992).

Ácidos graxos com insaturação conjugada não são normalmente constituintes da dieta do rebanho leiteiro. O CLA é formado no rúmen como um primeiro intermediário da biohidrogenação do ácido linoléico pela enzima ácido linoléico isomerase, proveniente da bactéria anaeróbica ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens*, que isomeriza o ácido linoléico preferencialmente para as formas cis-9 e trans-11 (KEPLER et al., 1966; PARODI, 1997).

O CLA está usualmente entre os compostos anti carcinogênicos que atuam reduzindo tanto a incidência de tumor em modelos experimentais de carcinogênese em ratos, como agentes citotóxicos existentes nas células cancerígenas. Esses resultados foram também demonstrados em estudos *in vitro* de células cancerígenas de melanoma, carcinoma de cólon, carcinoma de próstata, leucemia, carcinoma de ovário e tumor mamário (CHIN et al., 1993; IP et al., 1994; MCINTOSH et al., 1994; PARODI, 1994; NRC, 1996). Além da propriedade anticarcinogênica, o leite com alto teor de CLA ainda apresenta propriedade hipocolesterolêmica, sendo outra característica benéfica à saúde (LEE et al., 1994; KELLY e BAUMAN, 1996).

Vários estudos sugerem que o CLA pode atuar por mecanismos antioxidantes (HA et al., 1990; IP et al., 1991; BANNI et al., 1995), inibição da síntese de nucleotídeo (SHULTZ et al., 1992), redução da atividade proliferativa (IP et al., 1994), inibição da formação de DNA tumoral (ZU e SCHUT, 1992) e inibição da ativação da carcinogênese (PARODI, 1997).

Por extrapolação direta em estudos com ratos, IP et al. (1991) estimaram que a ingestão de CLA por uma pessoa de 70 kg deveria ser equivalente a uma quantidade diária de 3,5 g de CLA. Este valor é maior que a média estimada de 1 g de consumo diário por uma pessoa adulta nos Estados Unidos.

A adição de ácidos graxos insaturados na dieta de vacas lactantes pode aumentar de forma natural o CLA e diminuir o teor de gordura no leite, melhorando assim a imagem dos produtos lácteos junto ao consumidor, uma vez que este está preferindo os alimentos que possuem menor teor de gordura e sem aditivos, como a adição de CLA de forma artificial.

Os produtos à base de soja possuem grande percentual de ácidos graxos insaturados, principalmente o óleo de soja que possui, em média, 75% de insaturação. Entretanto, se a fonte de gordura adicionada à ração for proveniente de sementes oleagino-

sas (soja), que é um tipo de gordura protegida, pois possuem os lipídios presos na matriz protéica da semente, pode-se minimizar os efeitos dos lipídios sobre a fermentação ruminal, devido ao menor contato dos lipídios com os microrganismos (BYERS e SCHELLING, 1989).

Considerando que as dietas de ruminantes contêm cerca de 3% de lipídios, uma suplementação de gordura deve levar em consideração a quantidade e fonte de lipídios para que haja um efeito mínimo na fermentação ruminal, já que as gorduras insaturadas possuem efeitos inibitórios sobre os microrganismos celulolíticos. Diversos pesquisadores afirmam que teores maiores que 7% de lipídios na ração interferem negativamente na fermentação ruminal (PALMQUIST, 1989; JENKINS, 1995). Os efeitos da gordura dietética sobre a composição da gordura do leite têm sido amplamente estudados, mas só recentemente estão sendo desenvolvidas pesquisas verificando o efeito de fontes de lipídios sobre o aparecimento de ácido linoléico conjugado (PARODI, 1994; KELLY e BAUMAN, 1996).

Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito de fontes de lipídios adicionados à dieta sobre o perfil de ácidos graxos da gordura do leite, especialmente sobre o aumento de CLA.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Bovinocultura do Departamento de Zootecnia e as análises cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos, ambos da Universidade Federal de Viçosa - MG, no período de julho de 1998 a janeiro de 1999.

Foram utilizadas seis vacas multíparas 7/8 holandês-zebu, aproximadamente 30 dias após o parto, com peso vivo médio de 500 kg e produção média de 20 quilos de leite ao dia.

Os animais foram divididos em três grupos para recebimento dos diferentes tratamentos (dietas). Foram usadas três rações isoprotéicas e isoenergéticas, diferindo entre si pela fonte e teor de lipídios. O tratamento controle (tratamento 1) continha 3% de extrato etéreo, enquanto que as rações dos demais tratamentos foram balanceadas para atingir um teor de 7% de extrato etéreo na ração total, usando soja integral moída (tratamento 2) ou óleo de soja degomado (tratamento 3).

As rações foram balanceadas de acordo com as recomendações apresentadas pelo NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC (1989), utilizando-se o programa de cálculo de rações do Sistema Viçosa de Formulação de Rações (LANA, 2000). A composição da ração encontra-se na Tabela 1, sendo que a composição bromatológica apresentada refere-se a valores calculados com base no banco de dados de composição de alimentos do Sistema Viçosa de Formulação de Rações.

Antes de iniciar o experimento, todos os animais foram vermifugados, pesados e colocados em baias individuais. Os animais foram alimentados individualmente às 7 e 15h, recebendo o concentrado juntamente com o volumoso, e foram ordenhados duas vezes, diariamente. Nos períodos de adaptação e de coleta, foram feitas pesagens da silagem, do concentrado oferecido e das sobras. Diariamente, após a alimentação da tarde, os animais foram levados a um curral nas dependências do estábulo para descansarem no período da noite.

O ensaio constou de três períodos experimentais

de 23 dias de duração, sendo coletadas amostras de leite dos dois últimos dias para extração da gordura. As amostras foram coletadas às 6 e 14 horas, antes dos animais serem alimentados, foram acondicionadas em vasilhames esterilizados, mantidas sob refrigeração e transportadas para o laboratório.

Os ácidos graxos foram determinados por meio da modificação do método descrito por WERNER et al. (1992). As alterações foram introduzidas para minimizar os processos oxidativos, durante o processo de extração e hidrólise, e também para melhorar a hidrólise de fosfolipídios da gordura do leite.

A extração da gordura foi baseada no método descrito por NOUROOZ-ZADEH e APPELQVIST (1988). Dezessete mililitros da amostra de leite (em duplicata) foram transferidos para um funil de separação com acréscimo de 30 mL de isopropanol. Após agitação, acrescentou-se 22,5 mL de hexano, sendo agitado por mais três minutos. A mistura foi centrifugada em 4000 rpm (2520 X g) por 5 minutos na temperatura de 5°C. A camada superior foi transferida para outro funil de separação. A camada inferior foi extraída mais duas vezes com 22,5 mL de hexano, e esses extratos juntados ao primeiro. A água foi retirada dos extratos com a adição de 15 mL de Na₂SO₄ 0,47 M. A camada de hexano foi coletada em frasco e evaporada a 50°C no evaporador rotativo com fluxo de nitrogênio contínuo. O resíduo foi dissolvido em 50 mL de clorofórmio e seco com Na₂SO₄ anidro.

Uma alíquota de 10 mL da solução de gordura em clorofórmio foi retirada para a quantificação dos lipídios na solução, por evaporação do solvente e pesagem do resíduo. Em seguida, armazenou-se a solução a -18°C para posterior análise.

A preparação dos ésteres metílicos foi feita por meio de modificação dos métodos propostos por HARTMAN e LAGO (1986) e LIN et al. (1995). Alíquotas de 100 mg da solução de gordura foram transferidas para tubos de ensaio com tampa rosqueada. O solvente foi removido sob um fluxo contínuo de nitrogênio. Os lipídios foram hidrolisados com adição de 6 mL de NaOH 0,5N em metanol, e aquecidos a 70°C por 15 minutos para completa saponificação da amostra e obtenção de ácidos graxos livres.

Após resfriamento, adicionaram-se 12 mL de reagente de esterificação (H₂SO₄ e NH₄Cl em metanol) e aqueceu a 70°C por 10 minutos para formação dos ésteres metílicos. Após resfriamento,

Tabela 1 - Composição percentual e bromatológica dos tratamentos (%MS)

Table 1 - Ration composition and chemical analyses of the dietary treatments (DM basis)

Alimento <i>Food sources</i>	Tratamentos <i>Treatments</i>		
	Controle <i>Control</i>	Grão de soja <i>Ground soybean</i>	Óleo de soja <i>Soybean oil</i>
Silagem de sorgo <i>Sorghum silage</i>	59,5	70,0	74,4
Fubá de milho <i>Corn meal</i>	22,2	5,5	-
Farelo de soja <i>Soybean meal</i>	17,2	-	20,0
Soja integral moída <i>Ground soybean</i>	-	23,5	-
Óleo de soja <i>Soybean oil</i>	-	-	4,6
Suplemento mineral <i>Mineral supplement</i>	1,1	1,0	1,0
NDT (TDN) ¹	70,0	70,0	70,0
PB (CP) ¹	15,0	15,0	15,0
EE (EE) ¹	3,0	7,0	7,0

¹ Valores calculados com base no banco de dados de composição de alimentos do Sistema Viçosa de Formulação de Rações (LANA, 2000); NDT=nutrientes digestíveis totais, PB=proteína bruta, EE=extrato etéreo.

¹ Calculated values based on the database of food composition of the Sistema Viçosa de Formulação de Rações (LANA, 2000); TDN=total digestible nutrients, CP=crude protein, EE=ether extract.

acrescentaram-se 2 mL de NaCl 1N e 2 mL de hexano. O tubo foi agitado e em seguida centrifugado a 500 x g por 10 minutos. A fase superior contendo os ésteres metílicos foi coletada e estocada a temperatura de -18°C, para ser analisada por cromatografia.

As análises dos ésteres metílicos dos ácidos graxos da gordura do leite foram realizadas num cromatógrafo a gás, modelo Varian 3400, equipado com detector de ionização de chama (FID). Para registro e análise dos cromatogramas, o aparelho foi acoplado a um microcomputador utilizando o programa "Varian Star Chromatography Workstation". Os componentes dos ésteres metílicos foram separados em uma coluna Supelcovax 10 (60 m x 0,32 mm x 0,25 µm; Supelco, Inc., Bellefonte, PA).

As condições utilizadas para a separação cromatográfica foram:

- Temperatura da coluna: 50°C para 150°C, 20°C/min; 150°C para 255°C, 4°C/min, mantida por 9 minutos; e 255°C para 260°C, 5°C/min, mantida por 5 min.

- Temperatura do injetor: 250°C

- Temperatura do detector: 260°C

- Vazão dos gases: Hélio (gás de arraste): 1 mL/min

- Nitrogênio (makeup): 30 mL/min

- Hidrogênio: 30 mL/min

- Ar sintético: 330 mL/min

- Injeção: 1,5 µL de amostra em duplicata

- Seringa: Hamilton, 10 µL

- Vazão do "splitter": 60 mL/min

Os picos de CLA e dos outros ácidos graxos foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos ácidos graxos de uma mistura de padrões (JONG e BADINGS, 1990; SHANTHA e ACKMAN, 1990). A quantificação dos ácidos graxos foi feita usando-se fatores de correção para as áreas dos picos, calculados a partir de misturas padrões de ácidos graxos, segundo o método AOCS Ce 1-62 (1993).

Os dados do experimento foram analisados em dois quadrados latinos 3 x 3, onde todos os animais passaram por todos os tratamentos. Cada animal em cada período correspondeu a uma unidade experimental, dando um total de 18 unidades experimentais. As análises de todas as amostras foram conduzidas em duplicata.

As análises estatísticas foram feitas usando o procedimento GLM do MINITAB (RYAN e JOINER, 1994), a 5% de probabilidade. O modelo estatístico incluiu efeitos de tratamentos, quadrado latino, ani-

mal dentro de quadrado latino e período, conforme esquema abaixo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + A_k + P_l + E_{ijkl}$$

em que: Y_{ijkl} = é a observação referente ao i-ésimo tratamento, j-ésimo quadrado latino, k-ésimo animal dentro de quadrado latino e l-ésimo período; μ = média geral; T_i = efeito do tratamento i, i = 1, 2 e 3; Q_j = efeito do quadrado latino j, j = 1 e 2; A_k = efeito do animal k dentro de quadrado latino, k = 1, 2 e 3; P_l = efeito do período l, l = 1, 2 e 3; E_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação, ~ NID (0, σ^2).

Os efeitos de tratamentos foram comparados utilizando os seguintes contrastes ortogonais:

$$C1 = 2A1 - A2 - A3$$

$$C2 = 0 + A2 - A3$$

em que: C1 = contraste 1 e C2 = contraste 2; A1 = controle; A2 = soja integral moída e A3 = óleo de soja.

Resultados e Discussão

Quando comparado com a ração controle, as fontes suplementares de lipídios (grão de soja ou óleo de soja) reduziram significativamente os teores dos ácidos graxos butírico, caprótico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico e total de ácidos graxos de cadeia curta (butírico, caprótico, caprílico, cáprico e láurico) no leite, sendo o efeito maior com a ração suplementada com óleo de soja (Tabelas 2 e 3). Resultados semelhantes foram encontrados por DRACKLEY e ELLIOTT (1992), SCHAUFF et al. (1992), KIN et al. (1993), WU et al. (1994), ELLIOTT et al. (1995) e PINTO (1997).

Os ácidos graxos de cadeia curta são sintetizados principalmente nas células epiteliais da glândula mamária (LIN e KUMAR, 1971), a partir do acetato e β -hidroxi-butirato, que são originados no rúmen. Os valores encontrados sugerem que a inibição da síntese de ácidos graxos no leite pelos suplementos alimentares de lipídios pode ser explicada pela diminuição da relação acetato/propionato no rúmen (CHALUPA et al., 1986).

A gordura do leite possui elevadas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta quando comparado com outros alimentos. Estes ácidos graxos apresentam a característica de serem voláteis, o que irá conferir grande parte do aroma e sabor de muitos produtos lácteos, principalmente da manteiga e dos queijos (ABREU, 1993) e, no caso dos queijos, esses ácidos contribuem para caracterizar os diferentes tipos conhecidos. Segundo ABREU (1993), os ácidos

Tabela 2 - Valores percentuais de ácidos graxos da gordura de leite (g/100g de gordura)

Table 2 - Percentage of fatty acids in milk fat (g/100 g of milk fat)

Ácido graxo <i>Fatty acid</i>	Tamanho da cadeia <i>Chain size</i>	Tratamentos <i>Treatments</i>			Erro-padrão <i>Standard error</i>	Contraste <i>Contrast</i>	
		Controle <i>Control</i>	Grão de soja <i>Ground soybean</i>	Óleo de soja <i>Soybean oil</i>		L1	L2
Butírico (<i>butyric</i>)	C 4:0	5,78	5,23	4,80	0,22	0,02	0,19
Capróico (<i>caproic</i>)	C 6:0	3,59	2,99	2,66	0,20	0,01	0,28
Caprílico (<i>caprylic</i>)	C 8:0	1,49	1,18	1,01	0,11	0,01	0,29
Cáprico (<i>capric</i>)	C 10:0	2,92	2,18	1,18	0,25	0,02	0,34
Láurico (<i>lauric</i>)	C 12:0	2,94	2,19	1,75	0,27	0,01	0,27
Mirístico (<i>myristic</i>)	C 14:0	8,48	6,99	6,05	0,61	0,03	0,30
Palmítico (<i>palmitic</i>)	C 16:0	22,05	19,43	16,13	1,71	0,07	0,20
Palmitoléico (<i>palmitoleic</i>)	C 16:1	1,04	0,89	0,85	0,06	0,06	0,71
Heptadecanóico (<i>heptadecanoic</i>)	C 17:0	0,41	0,39	0,37	0,02	0,11	0,38
Estearico (<i>stearic</i>)	C 18:0	8,20	11,82	11,14	1,03	0,03	0,65
Oléico (<i>oleic</i>)	C 18:1	25,95	32,10	31,48	2,51	0,09	0,86
Linoléico, (<i>linoleic</i>)	C 18:2	1,60	2,12	1,25	0,14	0,65	0,00
Linolênico (<i>linolenic</i>)	C 18:3	0,10	0,14	0,08	0,01	0,46	0,00
CLA ^a	C 18:2	0,21	0,18	0,43	0,04	0,07	0,00
Araquídico (<i>arachidic</i>)	C 20:0	0,07	0,07	0,08	0,01	0,57	0,55
Não Identificados (<i>not identified</i>)	-	15,15	12,09	19,92	2,51	0,79	0,05

L1 - Controle versus grão de soja e óleo de soja; L2 - Grão de soja versus óleo de soja.

L1 - Control versus ground soybean plus soybean oil; L2 - Ground soybean versus soybean oil.

^a Ácido linoléico conjugado (*conjugated linoleic acid*).

graxos de cadeia curta não são muito importantes para o leite de consumo, pois sua importância se reflete mais sobre os produtos lácteos que necessitam de aromas característicos para conferir distinção de qualidade.

PINTO (1997) encontrou teores de ácidos graxos de cadeia curta semelhante aos deste trabalho e afirmou que esses ácidos só contribuem para o aroma após sua hidrólise, que normalmente é parcial, pois é mais afetada pela concentração de enzimas lipolíticas do que pela concentração do substrato. Este autor concluiu que todas as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta encontradas no seu experimento eram suficientes para ultrapassar em muitas vezes as concentrações necessárias para saturar as lipases presentes na massa do queijo, caso esse leite fosse destinado para tal fim. Então, teoricamente, o leite produzido neste experimento não altera as qualidades organolépticas do queijo, mas se faz necessária a condução de estudos sensoriais para afirmar tal hipótese.

Os lipídios adicionados à ração aumentaram o teor de ácido esteárico e tenderam a aumentar os teores de ácido oléico e o total de ácidos graxos de cadeia longa, porém não foram encontradas diferenças do tipo de suplementação (Tabelas 2 e 3). Seme-

lhantes resultados foram encontrados por SCHAUFF et al. (1992), DRACKLEY e ELLIOTT (1992), KIN et al. (1993), WU et al. (1994), ELLIOTT et al. (1995) e PINTO (1997).

Como as fontes suplementares de lipídios adicionados na dieta dos animais eram principalmente de ácidos graxos de cadeia longa, estes provavelmente tiveram grande influência na elevação da concentração dos mesmos na gordura do leite, após sofrer ou não biohidrogenação por ação microbiana no rúmen. O processo de saturação de ácidos graxos pelos microrganismos ruminais tem como objetivo reduzir sua reatividade e, desse modo, proteger a integridade das membranas lipoprotéicas microbianas (JENKINS, 1995).

Pode-se observar, ainda, neste experimento, que as fontes de lipídios diminuíram o total de ácidos graxos saturados (principalmente óleo de soja) e tenderam a aumentar o total de ácidos graxos insaturados (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos por DRACKLEY e ELLIOTT (1992) e LACOUNT et al. (1995). Esse efeito pode ser devido ao aumento no fornecimento de lipídios ricos em ácidos graxos insaturados na dieta, em que parte destes escapa do processo de biohidrogenação ruminal, sendo absorvida no intestino delgado, ele-

Tabela 3 - Valores percentuais de ácidos graxos agrupados na gordura do leite (g/100 g de gordura)
 Table 3 - Percentage of grouped fatty acids in milk fat (g/100 g of milk fat)

Ácido graxo Fatty acid	Tratamentos Treatments			Erro-padrão Standard error	Contraste Contrast	
	Controle Control	Grão de soja Ground soybean	Óleo de soja Soybean oil		L1	L2
Insaturados Unsaturated	28,9	35,4	34,1	2,52	0,09	0,71
Saturados Saturated	56,0	52,5	46,0	2,41	0,05	0,09
Cadeia curta Short chain	16,7	13,8	12,2	0,93	0,01	0,26
Cadeia longa Long chain	36,1	46,4	44,5	3,50	0,06	0,70

L1 - Controle versus grão de soja e óleo de soja; L2 - Grão de soja versus óleo de soja.
 L1 - Control versus ground soybean plus soybean oil; L2 - Ground soybean versus soybean oil.

vando, com isso, seus teores no leite. Outro motivo é a redução dos ácidos graxos de cadeia curta, devido ao menor suprimento dos ácidos acético e butírico, produzidos por ação microbiana ruminal, e utilizados na síntese dos ácidos graxos de cadeia curta do leite (JENKINS, 1995).

A adição do grão de soja aumentou os teores de ácido linoléico e linolênico no leite (Tabela 2), quando comparado ao óleo de soja, sendo este fato explicado, provavelmente, pela proteção dos lipídios na matriz protéica da soja, diminuindo seu contato com os microrganismos ruminais (BYERS e SCHELLING, 1989).

Hoje, os consumidores de alimentos estão mais preocupados com relação à concentração de ácidos graxos de cadeia saturada, associada à presença de colesterol. Esse aspecto é de suma importância no que se refere à composição da gordura dos produtos lácteos. O aumento de ácidos graxos insaturados, juntamente com a redução dos saturados, favorável à redução do colesterol sanguíneo no homem, causaria um impacto positivo na nutrição humana, mais especificamente na prevenção de doenças crônicas degenerativas, além de melhorar a imagem dos produtos lácteos junto aos consumidores.

Brousseau et al. (1993), citados por PINTO (1997), estudando a substituição de ácidos graxos saturados por ácidos graxos mono ou poliinsaturados em dietas de macacos (*Macaca fascicularis*), verificaram redução significativa do colesterol total no plasma sanguíneo, mostrando que dietas altas em ácidos graxos poliinsaturados decresceram as concentrações VLDL + LDL, com consequentes dimi-

nuições das concentrações de colesterol. Entretanto, quando a dieta era rica em ácidos graxos saturados, era observado aumento dessas lipoproteínas. Ao adicionar na dieta ácidos monoinsaturados, reduziram em 17% a concentração total de colesterol no plasma em relação à dieta com ácidos graxos saturados. Já com dietas poliinsaturadas, esse percentual foi reduzido para 30%.

MAZIER e JONES (1997), utilizando seres humanos em seus experimentos, estudaram o efeito da gordura saturada, mono e poliinsaturada sobre a síntese de colesterol. Observaram que, quando a dieta era rica em ácidos graxos saturados, os níveis de colesterol e triglicerídeos no sangue aumentavam, e quando a dieta era rica em ácidos graxos insaturados, aqueles diminuía. Os autores verificaram, ainda, que as concentrações de HDL foram maiores quando se forneceu dietas contendo gorduras insaturadas.

O ácido esteárico não está associado ao colesterol, pois, quando ele é ingerido, é metabolizado a ácido oléico (HARTMAN, 1993). Já os ácidos láurico, mirístico e palmítico são indesejáveis, porque induzem o aumento de colesterol no sangue (GRINARI et al., 1995). Neste experimento, as fontes de lipídios aumentaram o ácido esteárico, reduziram os ácidos láurico e mirístico e tenderam a diminuir o palmítico no leite. Com base nestes dados, pode-se inferir que o leite das dietas contendo grão de soja moído ou óleo de soja degomado poderá favorecer a redução do colesterol sanguíneo no homem.

O nível de CLA no leite varia em função da dieta. DHIMAN et al. (1996) verificaram aumento linear

de CLA (de 8 a 23 mg/g de gordura), quando as vacas consumiram pastagens correspondendo a 33, 67 e 100% de suas dietas, complementadas com feno de alfafa (volumoso conservado) e concentrado. MCGUIRE et al. (1996) obtiveram aumento linear na concentração de CLA no leite, alcançando um índice de 300%, ao variar o nível de lipídios insaturados na dieta de 3 a 7,2%, utilizando o óleo de milho. GRIINARI et al. (1996) verificaram aumento de CLA de 25 vezes (0,2 para 4,9 mg/g de gordura) com a adição de ácidos graxos insaturados em relação à mesma quantidade de ácidos graxos saturados, quando a dieta continha 80% de concentrado, e aumento de 50 vezes (0,2 para 9,1 mg/g de gordura) em dietas com 50% de concentrado. Entretanto, STANTON et al. (1997) observaram redução no nível de CLA com decréscimo no consumo de pastagem e aumento no consumo de semente oleaginosa, apesar desta semente ser rica em lipídios insaturados.

A ração suplementada com óleo de soja aumentou significativamente o percentual de CLA, comparada à ração com grão de soja, que foi numericamente inferior à ração controle (Tabela 2; Figura 1). Isto ocorreu, provavelmente, devido ao fato de os ácidos linoléico e linolênico estarem mais disponíveis para ser biohidrogenados e, assim, formarem o CLA durante a fase de isomerização. Estes resultados, portanto, demonstram que a adição de óleo não protegido à dieta aumenta o teor de CLA, conforme observado

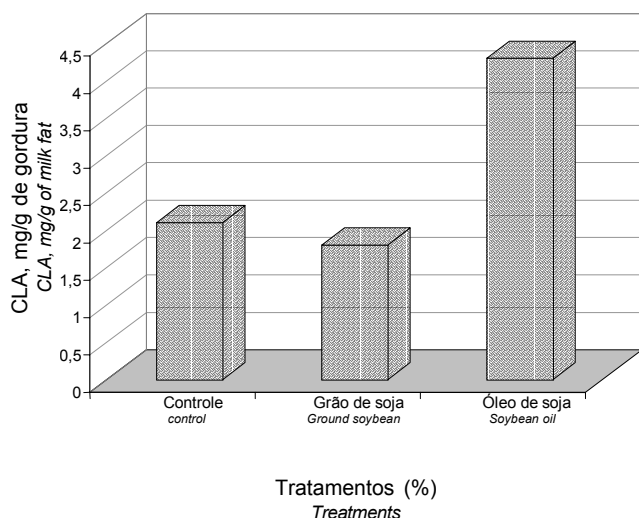


Figura 1 - Efeito da suplementação de lipídios sobre o nível de CLA no leite.

Figure 1 - Effect of lipids supplementation on the CLA of milk.

por MCGUIRE et al. (1996) e GRIINARI et al. (1996). Enquanto a adição do óleo presente no grão das sementes oleaginosas, mesmo estando na forma de grão moído e não tostado, não aumenta o teor de CLA, já que possuem os lipídios presos na matriz protéica da semente, conforme observado por JIANG et al. (1996) e STANTON et al. (1997).

O óleo de soja tendeu, ainda, a aumentar o teor de ácidos graxos não identificados (Tabela 2), provavelmente devido ao fato de os ácidos graxos insaturados do óleo de soja estarem disponíveis para biohidrogenação, proporcionando produção de inúmeras formas isoméricas (VAN SOEST, 1982), que não foram determinadas neste trabalho.

Conclusões

A inclusão de óleo de soja degomado, e não soja grão, para atingir 7% de lipídio na dieta de vacas leiteiras, aumenta o teor de CLA na gordura do leite.

Referências Bibliográficas

- ABREU, L.R. *Factors affecting the biosynthesis of branched-chain fatty acid in milk fat*. Madison, WI: University of Wisconsin, 1993, 163p. Tese (Doctor of Philosophy) - University of Wisconsin, 1993.
- BANNI, S., DAY, B.W., EVANS, R.W. et al. 1995. Detection of conjugated diene isomers of linoleic acid in liver lipids of rats fed a choline-devoid diet indicates that the diet does not cause lipoperoxidation. *J. Nutr. Biochem.*, 6:281-289.
- BYERS, F.M., SCHELLING, G.T. 1989. Lipids in ruminant nutrition. In: CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. New Jersey: A Reston Book. p.298-312.
- CHALUPA, W., VECCIARELLI, B., ELSER, A.E. et al. 1986. Ruminal fermentation *in vitro* of long chain fatty acids. *J. Dairy Sci.*, 69:1293-1303.
- CHIN, S.F., LIU, W., STORKSON, J.M. et al. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognised class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.*, 5:185-197.
- CHIN, S.F., STORKSON, J.M., LIU, W. et al. 1993. Conjugated linoleic acid (9,11-and 10, 12-octadecadienoic acid) is produced in conventional but not germ-free rats fed linoleic acid. *J. Nutr.*, 124:694-701.
- DHIMAN, T.R., ANAMD, G.R., SATTER, L.D. et al. 1996. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy. Sci.*, 79 (Suppl. 1):137.
- DRACKLEY, J.K., ELLIOTT, J.P. 1992. Milk composition, ruminal characteristics, and nutrient utilization in dairy cows fed partially hydrogenated tallow. *J. Dairy Sci.*, 76:183-196.
- ELLIOTT, J.P., DRACKLEY, J.K., FAHEY, G.C.Jr. et al. 1995. Utilization of supplemental fat by dairy cows fed diets varying in content of nonstructural carbohydrates. *J. Dairy Sci.*, 78:1512-1525.
- GRIINARI, J.M., BAUMAN, D.E., JONES, L.R. 1995. Low milk fat in New York holstein herds. *Pro. Nutr. Conf.*, p.96-105.

- GRIINARI, J.M., DWYER, D.A., MCGUIRE, M.A. et al. 1996. Partially hydrogenated fatty acid and milk fat depression. *J. Dairy Sci.*, 79 (Suppl. 1):177.
- HA, Y.L., STORKSON, J., PARIZA, M.W. 1990. Inhibition of benzo[a]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res.*, 50:1097-1101.
- HARTMAN, L. 1993. *A evolução de idéias sobre a função dos óleos e gorduras na alimentação humana*. Boletim SBCTA, Campinas, 27:55-58.
- HARTMAN, L., LAGO, R.C.A. 1986. *Rapid preparation of fatty acids methyl esters*. London: Laboratory Practice. v.22, p.475-476.
- IP, C., CHIN, S.F., SCIMECA, J.A. et al. 1991. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res.*, 51:6118-6124.
- IP, C., SINGH, M., THOMPSON, H.J. et al. 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.*, 54:1212-1215.
- JENKINS, T.C. 1995. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 76:3851-3863.
- JIANG, J., BJOERCK, L., FONDEN, R. et al. 1996. Occurrence of conjugated cis-9, trans-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen. *J. Dairy Sci.*, 79:438-445.
- JONG, C., BADINGS, H.T. 1990. Determination of fatty acids in milk and cheese: procedures for extraction, clean up, capillary gas chromatographic analysis. *J. High Resolution Chromatography.*, 13:94-98.
- KELLY, M.L., BAUMAN, D.E. 1996. Conjugated linoleic acid: a potent anticarcinogen found in milk fat. *Proc. Cornell Nutr. Conf.*, Ithaca NY, p.68-74.
- KEPLER, C.R., HIRONS, K.P., MCNEILL, J.J. et al. 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.*, 241:1350-1354.
- KIN, Y.K., SCHINCOETHE, D.J., CASPER, D.P. et al. 1993. Supplemental dietary fat from extrudes soybeans and calcium soaps of fatty acids for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 76:197-204.
- LACOUNT, D.W., DRACKLEY, J.K., CICELA, T.M. et al. 1995. High oil corn as silage or grain for dairy cows during an entire lactation. *J. Dairy Sci.*, 78:1745-1754.
- LANA, R.P. 2000. *Sistema Viçosa de formulação de rações*. Viçosa: UFV. 60p.
- LEE, K.N., KRITCHEVSKY, L., PARIZA, M.W. 1994. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 108:19-25.
- LIN, C.Y., KUMAR, S. 1971. Primer specificity of mammary fatty acid synthetase and the role of the soluble b-oxidative enzymes. *J. Biological Chemistry*, 246:3284-3287.
- LIN, H., BOYLSTON, T.D., CHANG, M.J. et al. 1995. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. *J. Dairy Sci.*, 78:2358-2365.
- MAZIER, P.M.J., JONES, P.J.H. 1997. Diet fat saturation and feeding state modulate rates of cholesterol synthesis in normolipidemic men. *J. Nutr.*, 127:332-340.
- MCGUIRE, M.A., MCGUIRE, M.K., GUY, M.A. et al. 1996. Effect of dietary lipid concentration on content of conjugated linoleic acid (CLA) in milk from dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 74 (Suppl. 1):266.
- MCINTOSH, G.H., REGISTER, G.O., LEU, R.K.L. et al. 1994. Dairy proteins protect against dimethylhydrazine-induced intestinal cancers in rats. *J. Nutr.*, 125:809-816.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1996. *Carcinogens and anticarcinogens in the human diet*. Washington, D.C.: National Academy Science. 118p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1989. *Nutrient Requirements of dairy cattle*. 6.ed. Washington D.C.: National Academy Science. 158p.
- NOUROOZ-ZADEH, J., APPELQVIST, L.A. 1988. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: milk powder products. *J. Food Sci.*, 53:74-87.
- PALMQUIST, D.L. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 6, 1989, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1989. p.11-25.
- PARODI, P.W. 1977. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J. Dairy Sci.*, 60:1550-1553.
- PARODI, P.W. 1994. Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk. *Aust. Dairy Technol.*, 49:93-97.
- PARODI, P.W. 1997. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agent. *J. Nutr.*, 127:1055-1060.
- PINTO, S.M. *Produção e composição química do leite de vacas holandesas no início da lactação alimentadas com diferentes fontes de lipídeos*. Lavras, MG: UFLA, 1997, 74p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, 1997.
- RYAN, B.F., JOINER, B.L. 1994. *Minitab handbook*. 3.ed. Belmont, CA: Duxbury Press. 448p.
- SCHAUFF, D.J., CLARK, J.H., DRACKEY, J.K. 1992. Effect of feeding lactating dairy cows diets containing extruded soybeans and calcium salts of long chain fatty acids. *J. Dairy Sci.*, 75:3003-3019.
- SHANTHA, N.C., ACKMAN, R.G. 1990. Nervonic acid versus tricosanoic acid as internal standards in quantitative gas chromatographic analyses of fish oil longer-chain n-3 polyunsaturated fatty acid methyl esters. *J. Chromatogr.*, 533:1-10.
- SHULTZ, T.D., CHEW, B.P., SEAMAN, W.R. et al. 1992. Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and b-carotene on the *in vitro* growth of human cancer cells. *Cancer Lett.*, 63:125-133.
- STANTON, C., LAWLESS, F., KJELLMER, G. et al. 1997. Dietary influences on bovine milk cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid content. *J. Food Science*, 62:1083-1086.
- VAN SOEST, P.J. 1982. *Nutritional ecology of the ruminant*. Ithaca: Corvallis O e B Books. 372p.
- WERNER, S.A., LUEDECKE, L.O., SHULTS, T.D. 1992. Determination of conjugated linoleic acid content and isomer distribution in three cheddar-type cheeses: effects of cheese cultures, processing, and aging. *J. Agric. Chem.*, 40:1817-1821.
- WU, Z., HUBER, J.T., CHAN, S.C. et al. 1994. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. *J. Dairy Sci.*, 77:1644-1651.
- ZU, H.-X., SCHUT, H.A.J. 1992. Inhibition of 2-amino-3-methylimidazol 4,5-f quinoline-DNA adduct formation in CDF1 mice by heat-altered derivatives of linoleic acid. *Food Chem. Toxicol.*, 30:9-16.

Recebido em: 21/11/00

Accito em: 25/06/01