

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DOS ALIMENTOS**

**QUALIDADE DE MANTEIGAS PRODUZIDAS COM  
LEITE DE VACAS JERSEY SOB DIFERENTES  
NÍVEIS DE ÓLEO DE GIRASSOL NA DIETA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Brunele Weber Chaves**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2014**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

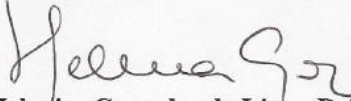
**QUALIDADE DE MANTEIGAS PRODUZIDAS COM LEITE  
DE VACAS JERSEY SOB DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEO DE  
GIRASSOL NA DIETA**

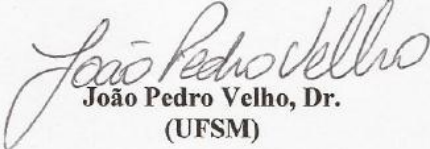
elaborada por  
**Brunele Weber Chaves**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**José Laerte Nörnberg, Dr.  
(Presidente, Orientador)**

  
**Helenice Gonzalez de Lima, Dr.<sup>a</sup>  
(UFPEL)**

  
**João Pedro Velho, Dr.  
(UFSM)**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Weber Chaves, Brunele

Qualidade de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta / Brunele Weber Chaves.-2014.

98 p.; 30cm

Orientador: José Laerte Nörnberg

Coorientador: Jorge Schafhauser Junior

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2014

1. Qualidade de produtos lácteos 2. Perfil diferenciado de ácidos graxos 3. Alimento funcional I. Nörnberg, José Laerte II. Schafhauser Junior, Jorge III. Título.

**QUALIDADE DE MANTEIGAS PRODUZIDAS COM LEITE  
DE VACAS JERSEY SOB DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEO DE  
GIRASSOL NA DIETA**

**Brunele Weber Chaves**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós  
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade  
Federal de Santa Maria (UFSM,RS), como requisito parcial para  
obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos  
Alimentos.**

**Orientador: Prof. Dr. José Laerte Nörnberg**

**Co-orientador: Prof. Dr. Jorge Schafhauser Junior**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2014**

## AGRADECIMENTOS

Tenho a agradecer primeiro a Deus pelo dom da vida.

As pessoas especiais que já se foram, mas que seja do lugar onde estejam são luz para guiar meus passos e mandam força e coragem para atingir meus objetivos e jamais esmorecer.

A meus pais, Itair e Carmen Ligia, pelo apoio incondicional. Ao mesmo tempo em que peço desculpas pela ausência, pela distância, agradeço sempre pelas oportunidades, pela confiança depositada, pelo amor, pelo exemplo dado que me motiva todos os dias a vencer e conquistar meus objetivos, muito obrigada, vocês são essenciais, sem vocês, nada teria sentido, são os verdadeiros merecedores de cada vitória.

A meu irmão Brainer, pelo apoio e pela torcida pelas conquistas e vitórias, a família é a base de tudo para um ser humano se tornar alguém merecedor.

A meu orientador, professor José Laerte Nornberg, com seu vasto conhecimento, contribuiu de forma essencial para minha formação, corrigindo os erros, melhorando os acertos com a serenidade e sabedoria sempre admiráveis, muito obrigado!

Ao pessoal da EMBRAPA de Capão do Leão, os mestrandos da Universidade Federal de Pelotas Rudolf e Fabio, ao meu co-orientador Jorge, pela parceria no trabalho de campo, na ajuda na pesquisa e na elaboração dos resultados alcançados, sem a participação de vocês, meu trabalho seria em vão, ou nem teria sentido.

Aos colegas de NIDAL, muito obrigado, pelo auxílio no trabalho de laboratório, nas incansáveis análises e repetições, o trabalho de vocês foi fundamental.

Agradeço ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria pelo apoio e por estar sempre disposto, nas pessoas da secretária Lia e dos demais professores, para sanar dúvidas, solucionar problemas fornecer aprendizado através das aulas e discussões e ajudar no que fosse preciso.

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado, pelo apoio a pesquisa que certamente foi fundamental e indispensável.

Apesar de um tempo relativamente curto de formação, com certeza foi de extrema valia para minha formação profissional, há várias pessoas que com certeza tiveram sua colaboração na elaboração deste trabalho, a todas o meu muito obrigado, sem a participação de todos vocês jamais teria chegado a sua conclusão.

Muito obrigado!

**“Só sabemos com exatidão quando sabemos pouco, com os conhecimentos vêm as  
dúvidas.”  
Goethe**

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### QUALIDADE DE MANTEIGAS PRODUZIDAS COM LEITE DE VACAS JERSEY SOB DIFERENTES NÍVEIS DE ÓLEO DE GIRASSOL NA DIETA

Autora: Brunele Weber Chaves

Orientador: José Laerte Nornberg

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 24 de março de 2014.

Objetivou-se avaliar a qualidade de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey que receberam diferentes níveis de óleo de girassol na dieta. O óleo de girassol, rico em ácidos graxos polinsaturados, foi fornecido aos animais com o intuito de que estes ácidos graxos fossem transferidos (na forma original e ou parcialmente biohidrogenados) ao leite e consequentemente estivessem presentes em derivados lácteos como a manteiga. Foram utilizadas oito vacas da raça Jersey, submetidas a diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0; 2,3; 4,7 e 7,0%), totalizando diferentes níveis de extrato etéreo da dieta (3,7; 6,4; 8,4 e 10,68% de extrato etéreo na matéria seca), em delineamento quadrado latino 4x4 duplo, com períodos experimentais de 15 dias, sendo 10 dias de adaptação e 5 dias de coleta de dados e de leite. Com o leite produzido por estes animais, nos dois últimos períodos experimentais, foram confeccionadas manteigas. As manteigas foram avaliadas em relação a sua qualidade e sua estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira, com avaliações nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias a partir da confecção das mesmas. Obteve-se manteigas com qualidade nutricional diferenciada, pela alteração no perfil de ácidos graxos, com maior participação de ácidos graxos benéficos a saúde dos consumidores, mono e polinsaturados, incluindo CLA (ácido linoléico conjugado) e, ao mesmo tempo, com características de textura que sugerem melhor espalhabilidade, consequentemente com maior aceitação por parte dos consumidores. O ponto negativo deste aumento de ácidos graxos polinsaturados tem relação com uma menor estabilidade a oxidação, o que foi observado na elevação dos teores de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) e alterações na cor e pH observadas no decorrer das análises e que pode comprometer sua vida de prateleira.

**Palavras-chave:** CLA, monoinsaturados, oxidação lipídica, polinsaturados

## **ABSTRACT**

Master Dissertation  
Graduate Program in Food Science and Technology  
Federal University of Santa Maria

### **BUTTER QUALITY PRODUCED WITH COWS JERSEY'S MILK UNDER DIFFERENT LEVELS OF SUNFLOWER OIL IN THE DIET**

Author : Brunele Weber Chaves

Advisor: José Laerte Nornberg

Date and Defense Place : Santa Maria , March 24<sup>th</sup>, 2014.

This study aimed to evaluate the quality of butters produced with Jersey cows fed different sunflower oil levels in the diet. Sunflower oil, rich in polyunsaturated fatty acids was fed to animals in order that these fatty acids were transferred (in the original form or partially biohydrogenated) milk and were therefore present in dairy products such as butter derivatives. We used eight Jersey cows under different sunflower oil levels in the diet (0, 2.3, 4.7 and 7.0%), totaling different levels of lipids in the diet (3.7; 6.4; 8.4 and 10.68% ether extract in dry matter) in Latin 4x4 square design, with experimental periods of 15 days, 10 days of adaptation and 5 days of data collection and milk. With the milk produced by these animals, in the last two experimental periods, butters were made. Butters were assessed for their quality and their oxidative stability in shelf life, with examinations at zero, 30, 60, 90 and 120 days from the making thereof. Obtained butters differentiated nutritional quality by altering the fatty acid profile, with greater involvement of beneficial fatty acids consumer health, mono- and polyunsaturated, including CLA (conjugated linoleic acid) and, at the same time with texture features suggesting a better spreadability therefore with greater acceptance by consumers. The drawback of the increase of polyunsaturated fatty acids is related to a lower oxidation stability, which was observed in elevation of the levels of thiobarbituric acid reactive species (TBARS) and changes in color and pH observed during analysis and which could jeopardize its shelf life.

**Keywords:** CLA, monounsaturated, lipid oxidation, polyunsaturated



## LISTA DE TABELAS

### MANUSCRITO 1

Tabela 1- Composição centesimal de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) .....	60
Tabela 2- Perfil de ácidos graxos, quantificados em mg/g de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) .....	61
Tabela 3- Perfil de ácidos graxos, quantificados em mg/g de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) .....	62
Tabela 4- Parâmetros de cor instrumental (L*, a*, b*, C*, H*) de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) .....	63
Tabela 5- Valores de firmeza e trabalho de corte correspondentes a textura das manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) .....	63
Tabela 6- Valores de pH, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) em mol/Kg e teor de colesterol (mg/100g) de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) .....	63

### MANUSCRITO 2

Tabela 1- Valores de pH e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) em mol MDA/kg de manteiga produzida com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira.....	78
Tabela 2- Perfil de ácidos graxos quantificados em mg/g de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira .....	79
Tabela 3- Perfil de ácidos graxos quantificados em mg/g de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira .....	80
Tabela 4- Perfil de ácidos graxos quantificados em mg/g de teigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira .....	81

Tabela 5- Perfil de ácidos graxos quantificados em mg/g de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira .....82

Tabela 6- Índices calculados a partir do perfil de ácidos graxos de amostra de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira .....83

Tabela 7- Equações de regressão demonstrando diferenças significativas para tratamento apenas no perfil de ácidos graxos de amostras de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira .....84

Tabela 8- Parâmetros de cor instrumental ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%), armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias .....85

Tabela 9- Parâmetros de cor instrumental ( $C^*$ ,  $H^*$ ) de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análise aos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias .....86

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Principais vias metabólicas de formação de isômeros do CLA no leite (adaptado de Collomb <i>et al.</i> , 2006).....	27
---	----

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Perfil de ácidos graxos de óleos vegetais utilizados na alimentação animal- Fonte: Adaptado de Willians (2000).....	34
Quadro 2: Composição nutricional da manteiga com e sem sal (valores por 100g de parte comestível) .....	37

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	
<b>3.1 Leite e gordura láctea .....</b>	<b>16</b>
3.1.1 Ácidos graxos saturados .....	20
3.1.2 Ácidos graxos insaturados .....	20
3.1.3 Razão de PUFA n-6/n-3 .....	21
3.1.4 Ácidos graxos trans .....	22
3.1.5 CLA (ácido linoleico conjugado) .....	23
3.1.6 Colesterol .....	28
3.1.7 Recomendações nutricionais da fração lipídica .....	29
3.1.7.1 Razão PUFA/SFA .....	29
3.1.7.2 Razão AG-h/AG-H .....	29
3.1.7.3 Índices de aterogenicidade e trombogenicidade .....	30
<b>3.2 Uso de fontes lipídicas na alimentação animal .....</b>	<b>30</b>
3.2.1 Óleo de girassol .....	34
<b>3.3 Manteiga .....</b>	<b>35</b>
<b>3.4 Oxidação lipídica .....</b>	<b>37</b>
<b>4 ARTIGOS CIENTÍFICOS</b>	
<b>4.1 Manuscrito 1-</b> Produção de manteiga naturalmente enriquecida com ácidos graxos benéficos à saúde dos seres humanos .....	42
<b>4.2 Manuscrito 2-</b> Estabilidade oxidativa de manteigas de vacas jersey sob diferentes níveis dietéticos de óleo de girassol .....	62
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS ...</b>	<b>87</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>88</b>

# 1 INTRODUÇÃO

Durante muito tempo, a alimentação e a nutrição foram estudadas, quase exclusivamente, sob o ponto de vista da satisfação das necessidades em nutrientes. Hoje, outros desafios existem, como o de considerar o papel preventivo que uma alimentação saudável pode ter. Os fatores de proteção à saúde dos consumidores fornecidos pelos alimentos são imensos, sobretudo no âmbito da prevenção das doenças crônico-degenerativas. Essencialmente nos países industrializados, os hábitos alimentares mudaram sob a influência de diversos fatores: modo de vida, técnicas agroalimentares, publicidade e outros.

Atualmente, a maior divulgação e/ou acesso a informações sobre o papel dos alimentos na saúde tem despertado grande interesse da população sobre os cuidados para com a alimentação mais saudável. A maior atenção com a saúde tem aumentado a exigência das pessoas quanto à qualidade e valor nutricional dos alimentos. Esta mudança de hábito das pessoas também tem influenciado a indústria a modificar a composição dos seus produtos.

Uma enorme variedade de distúrbios e doenças tem sido atribuída a mudanças nos estilos de vida, dos quais a alimentação é fator fundamental. As propriedades benéficas e prejudiciais da fração lipídica dos alimentos é um assunto que tem sido muito estudado nos últimos anos. Tal fato resulta da necessidade de se conhecer os teores da fração lipídica, evidenciar quais os teores dos ácidos graxos com efeitos benéficos na saúde assim como identificar os que poderão estar relacionados a predisposição de doenças.

O contexto de alimentação saudável está atrelado a diminuição no consumo de ácidos graxos saturados (AGS), especialmente de origem animal, o que tem sido largamente preconizado pelas sociedades médicas nas últimas décadas, com base em pesquisas que demonstraram efeitos maléficos deste tipo de gordura na saúde humana.

Distúrbios cardíacos coronarianos são uma grande causa de morte na América (American Heart Association, 2000) e na maioria dos países industrializados. Infortunadamente leite e alguns produtos lácteos têm sido relacionados como um dos fatores de risco em doenças cardíacas pelo seu alto conteúdo de ácidos graxos saturados (Noakes et al., 1996).

A fração lipídica do leite é majoritariamente composta por triacilgliceróis, incluindo também, pequenas quantidades de vitaminas lipossolúveis, fosfolipídios e colesterol. Os principais ácidos graxos distribuem-se em várias famílias, sendo característico o elevado teor em ácidos graxos saturados, nomeadamente o ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0) e mirístico (14:0). Relativamente ao teor em ácidos graxos insaturados, destacam-se os ácidos

oleico (18:1c9), linoleico (18:2n-6) e  $\alpha$ -linolênico (18:3n-3). Além destes ácidos graxos, apresenta ainda, os isômeros conjugados do ácido linoleico (CLA).

Desta forma, mudança no perfil de ácidos graxos com aumento no conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados em detrimento dos saturados surge como alternativa para aumentar a qualidade do leite e derivados, com perspectivas de maior aceitação pela comunidade científica e dos consumidores. Atualmente, considera-se uma alimentação saudável para seres humanos a que propicie a ingestão de ácidos graxos como o ácido linolênico e ácido linoleico conjugado (CLA), tendo em vista que a ingestão de alimentos ricos nestes ácidos graxos está associada com redução do risco de doenças cardiovasculares (Lorgeril & Salen, 2002). O termo ácido linoleico conjugado (CLA) refere-se a um grupo heterogêneo de isômeros posicionais e geométricos de ácidos graxos insaturados, que são encontrados predominantemente no leite e derivados lácteos, carnes e demais produtos com origem na exploração pecuária de ruminantes (Benjamin & Spener, 2009). O CLA tem sido relacionado também por seus efeitos anticarcinogênicos, antiaterogênicos, aumento da resposta imune, redução dos depósitos lipídicos corporais, e ainda, efeito antidiabético (Tanaka, 2005).

A composição dos lipídios é um dos determinantes de qualidade tecnológica e nutricional no leite. Os lipídios estão relacionados com o rendimento da produção dos derivados lácteos, e os diferentes ácidos graxos saturados e insaturados que os compõem estão associados positiva ou negativamente à saúde dos consumidores (Chiara et al., 2003). A suplementação de lipídios na dieta de ruminantes possibilita a alteração da concentração de ácidos graxos específicos na gordura do leite, de acordo com a necessidade da indústria alimentícia e com o consumo humano (Urano, 2009).

O fornecimento de suplementos ricos em ácidos graxos insaturados, como os óleos vegetais, na dieta de vacas em lactação é uma forma de induzir a passagem destes ácidos graxos para o leite e conseqüentemente para produtos lácteos e assim melhorar o perfil de ácidos graxos, a qualidade e a aceitação destes produtos pelo mercado consumidor.

Entretanto, um perfil de ácidos graxos modificado pode trazer alguns efeitos não desejáveis por influenciar as propriedades físico-químicas do leite e de seus derivados como a dureza, a espalhabilidade, a cor, a estabilidade oxidativa, entre outros.

São necessárias pesquisas aprofundadas para ter conhecimento se os efeitos positivos, principalmente relacionados a produção de um leite de valor nutricional mais interessante do ponto de vista de perfil de ácidos graxos (maior participação de ácidos graxos insaturados) e sua conseqüente aceitação pelos consumidores se sobrepõe aos negativos (prejuízos as

propriedades físico químicas do leite e seus derivados), justificando assim a amplitude de uso de suplementos ricos em ácidos graxos insaturados para animais em lactação.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Objetivou-se investigar a influência da dieta de vacas leiteiras com crescentes percentuais de óleo de girassol no perfil lipídico, na qualidade nutricional e estabilidade oxidativa de manteigas.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar quimicamente as manteigas produzidas a partir do leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol (0; 2,3; 4,7 e 7%) em relação a uma dieta controle, totalizando valores de extrato etéreo de 3,7; 6,0; 8,4 e 10,7%;

- Avaliar a qualidade e potencial nutricional das manteigas produzidas através da análise de textura, teor de colesterol, pH, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) e análise de cor.

- Avaliar mudanças no perfil de ácidos graxos visando a produção de lácteos enriquecidos naturalmente com CLA tornando-se assim alimentos nutracêuticos;

- Avaliar a estabilidade oxidativa das manteigas produzidas a fim de simular a vida de prateleira de manteigas comerciais.

## **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 Leite e gordura láctea**

O leite na sua generalidade é um complexo sistema coloidal, que possui uma fase de gordura constituída por glóbulos de gordura em emulsão, correspondente a cerca de 3,5% a 4,7% de gordura, e uma fase aquosa que contém proteínas (80% na forma micelar), sais minerais, açúcares (lactose) e vitaminas hidrossolúveis. A fração lipídica do leite é majoritariamente constituída por triacilgliceróis (95-96%) e inclui também, vitaminas



lipossolúveis, pequenas porções de fosfolipídios (0,2-1%) e colesterol (0,25-0,45%) (German e Dillard, 2006). A composição do leite varia com a dieta, raça, fase de lactação, idade e estado físico do animal (Jensen, 2002).

Os ácidos graxos (AG) são constituídos por uma cadeia de hidrocarbonetos, cujo comprimento varia de quatro a 36 átomos de carbono (C), com um grupo metil ( $\text{CH}_3$ ) em uma extremidade e um grupo carboxil ( $\text{COOH}$ ) na outra (Nelson e Cox, 2002).

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

Os principais ácidos graxos distribuem-se pelas várias classes, sendo característico o elevado teor em ácidos graxos saturados, nomeadamente o ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0), mirístico (14:0) e butírico (4:0) (German e Dillard, 2006). Relativamente ao teor em ácidos graxos insaturados, destacam-se os ácidos oleico (18:1c9), linoleico (18:2n-6) e  $\alpha$ -linolênico (18:3n-3) (Belitz e Grosch, 1999).

As gorduras são substâncias de composição química extremamente variável e que têm a particularidade de serem insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos, como o éter e o clorofórmio. Na sua estrutura molecular encontram-se, quase exclusivamente, carbono, hidrogênio e oxigênio, apesar de existirem fórmulas químicas mais complexas (Breda, 2003). Os lipídios são derivados de ácidos graxos resultando da sua ligação com álcoois, geralmente, por ligações éster. Os lipídios dividem-se em simples e complexos, conforme são, ou não, constituídos apenas por carbono, oxigênio e hidrogênio (Halpern, 1997).

Os ácidos graxos são a unidade estrutural das gorduras, formam e caracterizam os triacilgliceróis. Segundo o comprimento da cadeia hidrocarbonada, os ácidos graxos podem ser classificados em ácidos graxos de cadeia curta (4 a 6 átomos de carbono), de cadeia média (8 a 10 átomos de carbono) e de cadeia longa (12 ou mais átomos de carbono). A dimensão da cadeia de átomos de carbono determina, em muitas instâncias, as propriedades químicas, físicas e metabólicas do ácido graxo (Breda, 2003).

Os ácidos graxos são nutrientes fundamentais à vida, sendo utilizados pelos organismos como fonte energética. Estão envolvidos direta ou indiretamente na regulação metabólica e na modulação imunitária, quer participando na regulação das membranas celulares (Wahle, 1983; Spector e Yorek, 1985), quer servindo de precursores na síntese de

eicosanóides (Mathias e Dupont, 1979), quer ainda como mensageiros químicos intracelulares. Demonstrou-se que também desempenham um papel na regulação da expressão de genes que codificam várias enzimas envolvidas no metabolismo dos lipídios e dos carboidratos (Sessler e Ntambi, 1998). Participam igualmente na regulação da diferenciação de diversos tipos celulares (Vanden, 1999).

Apesar de toda esta esfera de ação, as recomendações dietéticas no que diz respeito a ingestão de gorduras são fortemente condicionadas pela sua associação com as doenças cardiovasculares (Bessa, 1999).

É bastante discutido na área médica que a maior parte do risco cardiovascular relacionado com os lipídios seria devido à presença de um elevado número de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de pequena dimensão e não ao seu conteúdo em colesterol (Griffin, 1999). Os ácidos graxos alteram as concentrações de LDL, através do metabolismo hepático, via regulação da quantidade e atividade dos receptores hepáticos que permitem a sua remoção e metabolização (Dietschy, 1998). Os efeitos de cada ácido graxo neste sistema parecem depender da quantidade de colesterol ingerido (Dietschy et al., 1993).

O ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1*cis*-9) e os ácidos graxos de cadeia curta e média até 10C parecem ser inertes neste sistema; os ácidos C12:0, C14:0 e C16:0 podem ser considerados hipercolesterolêmicos; o ácido oleico, linoleico e linolênico aumentam o número de receptores hepáticos para a LDL e reduzem a sua produção, reduzindo assim as LDL circulantes. O ácido esteárico (C18:0) que representa entre 10 a 20% das gorduras produzidas pelos ruminantes, não se mostrou colesterolêmico em numerosos estudos. Por outro lado as propriedades anticolesterolêmicas dos ácidos monoinsaturados são provavelmente devidas apenas ao ácido oleico (18:1*cis*-9) já que ácidos graxos monoinsaturados como os ácidos eláidico (18:1*trans*-9), palmitoleico (16:1*cis*-9) e miristoleico (14:1*cis*-9) não partilham das mesmas propriedades (Nestel et al., 1994; Smith et al., 1996; Watts et al., 1996; Khosla et al., 1997).

A gordura do leite é especialmente rica em isômeros do ácido linoleico conjugado (CLA, do inglês *conjugated linoleic acids*) (Parodi, 1977), constituindo o isômero *cis*-9,*trans*-11 cerca de 90% do total de isômeros do CLA (Chin et al., 1992), o que lhe confere várias atividades biológicas entre as quais a atividade anti-carcinogênica (Parodi, 1994). O principal isômero conjugado de ácido linoleico, naturalmente encontrado na gordura do leite, é o ácido C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (Parodi, 1977), sendo ainda considerado como o mais biologicamente ativo, haja visto ser aquele preferencialmente incorporado nos fosfolipídios de membranas celulares (Bessa et al., 2000). Kramer et al. (1998) propuseram a designação de “ácido

rumênico”, como nome comum para tal isômero, uma clara referência ao local onde inicialmente verificou-se a produção do mesmo, o rúmen. Além disso, representa 75 a 90% do total de CLA presente na gordura do leite de ruminantes (Gama, 2010). Diversas propriedades fisiológicas atribuídas aos isômeros de CLA já foram comprovadas, incluindo funções anticarcinogênicas (Ip et al., 2002), antiaterogênicas (Sher et al., 2003), modificações na composição corporal (Park et al., 1997; Blankson et al., 2000; Risérius et al., 2001; Gaullier et al., 2004; Raff et al., 2009), modulação na função imune (Turpeinen et al., 2008). O isômero CLA *cis*-9, *trans*-11 tem sido identificado como um potente anticarcinogênico natural (Cook e Pariza, 1998), enquanto o CLA *trans*-10, *cis*-12 atua como eficiente agente repartidor de nutrientes (Park et al., 1997).

A gordura do leite constitui uma fonte de retinol,  $\alpha$ -tocoferol (A-TF) e  $\beta$ -caroteno (B-CT) (Debier et al., 2005), possuindo todos estes compostos uma atividade biológica. O B-CT é fundamental no desenvolvimento fetal e na manutenção da visão (Carmo, 2004), o A-TF é um potente antioxidante, evita a oxidação dos ácidos graxos polinsaturados (PUFA) e protege as membranas celulares e lipoproteínas da oxidação (Bramley et al., 2000). Tem sido também alvo das pesquisas elevar as concentrações dos ácidos linoleicos conjugados (CLA), especialmente o isômero CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-11), principal isômero do CLA presente no leite bovino, cujas propriedades anticarcinogênicas, antiaterogênicas, antidiabetogênicas (diabetes do tipo II) e imunomodulatórias têm sido demonstradas em diversos estudos (Dewhurst et al., 2006; Gama, 2010). O aumento da concentração do ácido vacênico nos produtos lácteos também é importante, pois foram encontrados 19% de conversão deste em ácido rumênico (CLA-C18:2 *cis*-9, *trans*-11) em humanos (Turpeinen et al., 2002; Wijlen e Colombani, 2010). Além disto, o ácido vacênico é também o principal precursor para a síntese endógena do ácido rumênico na glândula mamária (Griinari et al., 2000).

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

### 3.1.1 Ácidos graxos saturados

Os AGS são abundantes nos lipídios de origem animal, principalmente nos ruminantes (Breda, 2003), e carregam consigo grande parte da fama maléfica das gorduras de origem animal para a saúde dos consumidores. Correspondem à fórmula geral  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ , em que  $n$  varia de 4 a 22 átomos de carbono. Os de cadeia curta, com menos de 10 átomos de carbono, são líquidos à temperatura ambiente e voláteis, enquanto os de cadeia média e longa são sólidos, fundindo a temperaturas que vão progressivamente de 31,2 a 84,2°C, conforme o número de átomos de carbono e são estáveis à oxidação (Ferreira, 1983).

Estudos epidemiológicos (Kromhout et al., 1995; Kromhout et al., 2001) e clínicos (Hu et al., 2000) têm demonstrado que a ingestão de gorduras saturadas está associada com o aumento do risco de doenças cardiovasculares. No entanto, são os AGS com 12 a 16 átomos de carbono (C12 a C16) que parecem ser os maiores responsáveis pelo aumento da concentração das formas prejudiciais de colesterol no sangue (colesterol total e LDL - colesterol), bem como a razão LDL: HDL (Chizzolini et al., 1999).

### 3.1.2 Ácidos graxos insaturados

Um ácido graxo com duplas ligações designa-se insaturado. Se tem apenas uma dupla ligação é monoinsaturado e, se tem mais que uma dupla ligação é poliinsaturado. As duplas ligações permitem a existência de isômeros, as isomerias de posição devem-se a variações na localização de duplas ligações. Se os radicais estão no mesmo plano de simetria, os isômeros designam-se por *cis* e, se não estão, por *trans* (Halpern, 1997). Os ácidos graxos insaturados encontram-se, geralmente, na natureza sob a forma *cis*. É o que acontece com os ácidos oleico, linoleico e araquidônico, entre outros. Contudo, por ação de agentes físicos, nomeadamente do calor, pode produzir-se uma isomerização estereoquímica, passando o ácido graxo para a configuração *trans* (Breda, 2003). As formas *trans* comportam-se bioquimicamente de maneira muito diferente das formas *cis*, provocando uma perda de propriedades dos ácidos graxos insaturados, que se tornam, neste caso, também lesivos para a saúde (Breda, 2003).

O número de duplas ligações dos PUFA (ácidos graxos poliinsaturados) é variável (2, 3, 4, 5 ou superior), sendo a forma *cis* a predominante (Ferreira, 1983). Os ácidos graxos essenciais são ácidos graxos poliinsaturados que não podem ser sintetizados pelo organismo

humano: os ácidos linoleico,  $\alpha$ -linolênico e araquidônico (Breda, 2003). O ácido linoleico tem importantes funções, fundamentalmente na síntese de prostaglandinas. Este ácido é abundante em óleos de grãos (milho, girassol e soja) e em outros alimentos vegetais (Breda, 2003). O ácido  $\alpha$ -linolênico é muito importante para a formação de estruturas celulares do sistema nervoso, podendo (a partir dele) sintetizarem-se ácidos graxos n-3, fundamentais para o organismo, pela sua ação protetora cardiovascular (Breda, 2003).

### 3.1.3 Razão de PUFA n-6/n-3

O ácido linoleico (18:2n-6) e o  $\alpha$ -linolênico (18:3n-3) são considerados PUFAs essenciais, pelo que deverão ser obrigatoriamente ingeridos com a dieta (Gurr, 1996).

Os PUFA n-6 e n-3 são sintetizados apenas pelas plantas e fitoplâncton, não sendo possível nos animais a conversão metabólica entre as duas famílias destes ácidos graxos (Simopoulos, 2000; Prates e Mateus, 2002). Integram os lipídios das membranas celulares, sendo a composição em PUFA das membranas fortemente dependente da dieta. Estudos mais recentes sugerem que os PUFA presentes nos triacilgliceróis podem exercer um efeito aterosclerótico, devido à sua fácil oxidação, uma vez que os compostos resultantes desta oxidação são citotóxicos, podendo contribuir para o desenvolvimento de tumores malignos. Em estudos animais, o consumo de ácido linoleico foi positivamente correlacionado com a promoção tumoral, contrariamente a alguns PUFA n-3 (Molkentin, 2000). No entanto, na gordura do leite, estas questões são minimizadas, uma vez que o conteúdo da sua gordura em PUFA é baixo, relativamente a outro tipo de gorduras, como por exemplo, as gorduras vegetais (Molkentin, 2000).

Nos últimos anos a importância da ingestão de PUFA, quer da família n-3, quer da família n-6 foi compreendida. Dietas ricas em PUFA n-3 inibem a conversão do ácido linoleico, por inibição da  $\Delta 6$  – dessaturase, diminuindo o conteúdo em ácido araquidônico dos lipídios séricos e fosfolipídios microssomais hepáticos. Este fato assume importância porque, aqueles ao serem fornecidos pela dieta induzem naturalmente a inibição da síntese de ácido araquidônico (Moreira et al., 2000). De fato, os ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico competem para a dessaturação inicial, catalisada pela  $\Delta 6$  – dessaturase, o que torna importante a proporção entre estes ácidos (n-6/n-3). Dietas enriquecidas apenas em ácido linoleico não preveniram a incidência de doenças cardiovasculares. A justificativa pode prender-se com o efeito deste ácido graxo no aumento da reatividade das plaquetas, que desempenham um papel central na

trombogênese. Os PUFA n-3, pelo contrário, reduzem eficazmente a reatividade das plaquetas (Bessa, 1999).

O aumento da razão PUFA n-6/PUFA n-3 na dieta pode originar um estado fisiológico promotor de doenças cardiovasculares e de câncer. De acordo com as evidências, a dieta ocidental apresenta quantidade insuficiente de PUFA n-3 (Simopoulos, 2000). O papel protetor dos ácidos graxos n-3 nas doenças cardiovasculares (DCV) foi sugerido pela primeira vez por Bang e Dyerberg (1972), com base na observação de que os esquimós tinham baixas taxas destas doenças, apesar da sua dieta conter elevado teor de gordura.

A proteção das DCV pelos PUFA n-3 e o seu favorecimento pelos PUFA n-6 parece estar relacionado com a sua capacidade de biossíntese diferencial de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e lipoxinas) (Simopoulos, 2000). Os eicosanoides formados a partir dos PUFA n-6 (ex: prostaglandina  $E_2$ , tromboxano  $A_2$  e leucotrieno  $B_4$ ) são biologicamente mais ativos do que os biossintetizados a partir dos PUFA n-3 (ex: prostaglandina  $I_3$ , tromboxano  $A_3$  e leucotrieno  $B_5$ ). Quando formados em grande quantidade, os eicosanoides derivados dos PUFA n-6 podem contribuir para a formação de trombos e de ateromas, para o desenvolvimento de problemas alérgicos e inflamatórios, e ainda proliferação celular. Razões pelas quais, uma dieta rica em ácidos graxos n-6 pode originar um estado pró-trombótico, pró-inflamatório e vasoconstritivo. (Simopoulos, 2000).

Este índice constitui-se como um dos índices mais utilizados na avaliação nutricional das gorduras, pelas razões descritas anteriormente. De acordo com vários estudos epidemiológicos realizados, a razão n-6/n-3 deverá situar-se segundo a indicações de algumas organizações de saúde entre 5 e 10 (FAO-WHO, 1994), <4 (DH-UK, 1994), 1 e 2 de acordo com o NIH-EUA (1999 citado por Simopoulos, 2002).

#### 3.1.4 Ácidos graxos trans

A generalidade dos ácidos graxos que integram a dieta possui na sua estrutura molecular pelo menos uma dupla ligação, sendo a forma habitual destas ligações (C=C) a configuração cis, estando tipicamente posicionadas nos carbonos 3, 6 e 9 do grupo metilo terminal como, por exemplo, o ácido oleico (18:2c9) ou o ácido linoleico (18:2c9c12). Contudo alguns ácidos graxos têm uma ou mais duplas ligações na configuração trans, sendo assim designados ácidos graxos trans (TFA) (Fritsche e Steinhart, 1998).

Os TFA à semelhança do ácido linoleico conjugado apresentam-se como intermediários dos processos de biohidrogenação que ocorrem no rúmen dos ruminantes, sendo resultantes da fermentação bacteriana dos ácidos graxos insaturados, veiculados pela dieta (Fritsche e Steinhart, 1997). O primeiro passo desta biohidrogenação é a isomerização do ácido linoleico a 18:2 c9t11, catalisado pela ação das enzimas bacterianas do *Butyrivibrio fibrisolvens*; estes intermediários são então hidrogenados para formar principalmente uma mistura de ácido trans vacênico 18:1n-11 trans e ácido elaídico 18:1n-9 trans (Kepler et al., 1966), sendo predominante o isômero  $\Delta 11$  do ácido trans vacênico (Aro et al., 1998); de igual forma são formadas pequenas quantidades de 16:1 trans monoenoico e isômeros trans de 18:2 (Aro et al., 1998). Como resultado deste processo de biohidrogenação, a gordura presente em produtos de origem animal dos ruminantes, como na manteiga, queijo, leite e carne contém aproximadamente 2 a 8% de TFA (Pfalzgraf et al., 1994). Os TFA também são formados em quantidades variáveis durante a hidrogenação industrial de óleos de peixe e de óleos vegetais, a qual é realizada para conferir estabilidade oxidativa e térmica a óleos fortemente insaturados (Fritsche e Steinhart, 1998).

A concentração de TFA no leite e gordura dos ruminantes apresenta variação sazonal, verificando-se as mais elevadas concentrações durante a época das pastagens e níveis mais baixos durante o período de estabulação (Aro et al., 1998). A razão para uma ampla variação do teor de TFA nos produtos lácteos deve-se aos parâmetros de processamento tais como a pasteurização. A concentração TFA no leite está relacionada com a concentração de ácido oleico e mostra uma relação inversa com os teores de ácidos graxos saturados (Aro et al., 1998). Elevada ingestão de TFA aumenta a concentração ácido linoleico, diminui a proporção do ácido  $\alpha$ -linolênico e aumenta a razão PUFA n-6/n-3 (German e Dillard, 2006).

A partir da década de 90, através de estudos epidemiológicos, tem aumentado o conceito em nível de saúde pública, de que os TFA aumentam o risco de doenças coronárias (Willet et al., 1993). Estudos clínicos puderam verificar que a ingestão elevada de TFA aumenta a nível plasmático o colesterol total e as LDL e diminuem as HDL, contribuindo para o aumento do risco das doenças coronárias (Troisi et al., 1992).

### 3.1.5 CLA (Ácido Linoleico Conjugado)

A demanda por leite com propriedades funcionais decorrentes do ácido linoleico conjugado (CLA) está em plena expansão em países desenvolvidos, de forma que muitos

pesquisadores em todo o mundo têm avaliado diferentes formas de aumentar o teor de CLA no leite de ruminantes (Rodríguez-Alcala e Fontecha, 2007).

O CLA representa uma mistura de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico (cis-9, cis-12 octadecadienoico), com duplas ligações conjugadas. Estes isômeros caracterizam-se por possuírem uma cadeia carbonada onde as duas duplas ligações são separadas por uma ligação carbono-carbono, ao contrário da situação mais comum em que as duplas ligações são interrompidas por um grupo metílico (Bessa, 1999). É encontrado em vários produtos alimentícios, em maiores proporções nos lácteos, carnes bovinas, e em quantidades menores na suína, aves e óleo vegetal (Hur et al., 2007). O CLA tem sido relatado por apresentar efeitos benéficos na saúde, relacionado com doenças e utilizando modelos animais e culturas de células derivadas de humanos e animais. Assim, o CLA tem demonstrado efeitos benéficos à saúde como anticarcinogênico, redução na deposição de gordura corporal, redução no desenvolvimento de aterosclerose, estimulação da função imune e redução da glicose sanguínea. Portanto, a determinação do CLA em leites, que são uma das principais fontes naturais de CLA, é uma questão relevante para a saúde (Bessa, 1999).

As formas isoméricas do CLA apresentam as duplas ligações conjugadas nas posições 7,9; 8,10; 9,11; 10,12 ou 11,13 ao longo da cadeia de 18 átomos de carbono (Pariza et al., 2000). Cada uma delas pode ocorrer em uma ou mais das quatro configurações geométricas: cis-trans, trans-cis, trans-trans e cis-cis (Bessa et al., 2000).

De todos os isômeros do CLA, o ácido octadecadienóico cis9, trans11 (18:2c9,t11) e o ácido octadecadienóico trans10,cis12 (18:2t10,c12) são aqueles que estão descritos até ao momento que possuem atividade biológica (Pariza et al., 2001), contudo cis9,trans11 seja aquele que é predominantemente encontrado em humanos e animais (Parodi, 1977; Chin et al., 1992). É considerado como sendo o principal responsável pela atividade biológica (Parodi, 1994), por ser o que mais extensamente é incorporado nos fosfolipídios (Ha et al., 1990). A este isômero foi dado o nome comum de ácido rumênico (Kramer et al., 1998).

O CLA, presente principalmente em alimentos de origem animal, é produzido a partir dos ácidos graxos poli-insaturados pelos microrganismos do rúmen durante a biohidrogenação (Kepler *et al.*, 1966), o que leva a gordura dos ruminantes apresentar maior conteúdo de CLA do que a dos monogástricos.

O isômero cis9, trans11 representa 90% do total dos isômeros do CLA no leite, produtos lácteos, carne e produtos cárneos de origem ruminante (Chin et al., 1993; Pariza et al., 2000). Bauman et al. (2000) referem que a manteiga contém 76,5% do isômero cis9,trans11 e 6,7% do isômero cis7,trans9. O conteúdo de CLA em produtos lácteos é



influenciado por vários fatores: raça, espécie, idade do animal, tipo de alimentação, estação do ano, sistema de produção (Jahreis et al., 1996; Jahreis et al., 1999) e altitude (Collomb et al., 2002; Sieber et al., 2004). O teor total de CLA em leites e produtos lácteos varia entre 0,34-1,07% do total da gordura (Dhiman et al., 2005).

O efeito das condições de processamento, “starters” microbianos e condições de armazenagem têm sido estudados para avaliar o conteúdo de CLA. No leite pasteurizado a 68 °C durante 30 minutos não ocorreu alteração do teor de CLA (Baer et al., 2001). O conteúdo de CLA na manteiga processada entre 7 a 11 °C aumentou de 0,63% comparado com 0,50% da gordura do leite inicial (Shantha et al., 1995). Tem sido sugerido que a atividade de “starters” microbianos possa ser outro fator que contribua na variação do CLA nos produtos lácteos (Lin et al., 1995).

O ácido rumênico constitui um agente intermediário da biohidrogenação do ácido linoleico através da atividade da bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens*. A isomerização inicial é seguida pela saturação da dupla *cis*-9 (Hughes et al., 1982) resultando na produção de ácido trans vacênico (18:1 trans-11), o mais significativo isômero *trans* presente nas gorduras de produtos alimentares dos ruminantes (carne e produtos lácteos). Após a absorção intestinal do ácido trans vacênico (18:1 trans-11), este pode ser convertido no isômero *cis*9, *trans*11 pela ação da enzima  $\Delta^9$  – dessaturase ao nível das células da glândula mamária dos ruminantes (Pollard et al., 1980; Holman e Mahfouz, 1981). De fato, no leite e produtos lácteos foi descrita uma elevada correlação linear entre o principal isômero do CLA (18:2c9,t12) e o ácido trans vacênico (18:1 trans-11), o que sustenta a inter-relação da sua biossíntese (Fritsche et al., 1999). Pequenas quantidades de CLA podem ser produzidas pela auto-oxidação do ácido linoleico na presença de proteínas e singletos de oxigênio (Fritsche et al., 1999; Jahreis e Kraft, 2002).

Um resumo da formação de isômeros do CLA pode ser visualizado na Figura 1. Parte dos isômeros do ácido linoleico presentes nos produtos de ruminantes é oriunda da incompleta biohidrogenação de AGI dietéticos, realizada por determinadas espécies de bactérias ruminais. Outra parte é sintetizada pela via endógena no tecido intestinal e na glândula mamária pela ação da enzima  $\Delta$ -9-dessaturase (Reis et al., 2004). Segundo Reis et al. (2004), a biohidrogenação ruminal consiste em uma série de reações de isomerização e hidrogenação dos AG da dieta, tendo como produto final um AGS (Figura 1). Neste mecanismo de produção proposto, o CLA é sintetizado por bactérias ruminais que utilizam o C18:2 *cis*-9, *cis*-12 (ácido linoleico) ou o C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 (ácido  $\alpha$ -linolênico) como precursores (Dhiman et al., 2005). O CLA e os ácidos C18:1 *trans*, originados da biohidrogenação no

rúmen, passam para o intestino delgado, são absorvidos, são re-esterificados e, então, são liberados na circulação sanguínea (Kalscheur et al., 1997; Loor e Herbein, 1998), da qual podem ser captados pela glândula mamária e incorporados na gordura do leite (Parodi, 1994; Loor e Herbein, 1998). Na glândula mamária o ácido C18:1 *trans*-11 é dessaturado a C18:2 *cis*-9, *trans*-11, sendo que esta via representa a principal fonte (64%) do CLA *trans*-10, *cis*-12 encontrado no leite (Griinari et al., 2000).

Segundo Kepler e Tover (1967), o CLA (*cis*-9, *trans*-11) é o primeiro intermediário na biohidrogenação do ácido linoleico dietético, por meio da ação enzimática (*cis*-12, *trans*-11 octadecanodienoato isomerase) da bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens*. Este passo inicial requer, no entanto, prévia lipólise dos galactolipídeos, fosfolipídeos e triglicerídeos da dieta, disponibilizando ácidos graxos não-esterificados com radicais carboxila (-COO-) livres (Kepler et al., 1970). Assim, a etapa inicial de isomerização é seguida pela saturação da dupla ligação *cis*-9 por meio da ação da enzima *cis*-9, *trans*-11 linoleatoato redutase. O produto desta redução é o ácido vaccênico (C18:1 *trans*-11), o principal isômero *trans* do leite e tecidos musculares de ruminantes (Bessa et al., 2000). O ácido linoleico (18:2 *cis*9, *cis*12) é primeiro isomerizado a *cis*9, *trans*11 pela *cis*12, *trans*11 isomerase e hidrogenado pela *Butyrivibrio fibrisolvens* em ácido vacênico (18:1 *trans* -11) no rúmen (Kepler e Tove, 1967). A hidrogenação do ácido vacênico a ácido esteárico parece envolver um diferente grupo de organismos e ocorre a uma taxa reduzida (Griinari et al., 1997). Por esta razão, o ácido vacênico acumula-se no rúmen. Este principal ácido graxo *trans* é responsável pela formação do isômero do CLA *cis*9, *trans*11, ao qual ocorre pela ação da  $\Delta^9$  – dessaturase nos tecidos (Piperova et al., 2002). Outra via para a formação do CLA *cis*9, *trans*11 ocorre a partir do ácido  $\alpha$ -linolênico (18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15) no rúmen, envolve inicialmente a isomerização do conjugado trieno (18:3 *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15), seguido pela redução na dupla ligação no carbono 9,15 e 11 para formar o 18:2 *trans*-11, *cis*-15, 18:1 *trans*-11 e 18:0 (ácido esteárico), respectivamente, mas não *cis*-9, *trans*-11 (Kraft et al., 2003). O ácido  $\alpha$ -linolênico é um precursor indireto do *trans*-11, *cis*-13, mas a via da passagem *trans*-11, *cis*-15 a *trans*-11, *cis*-13 não está definida. No rúmen, ácido oleico é isomerizado para 18:1 *trans* com duplas ligações na cadeia entre o carbono 6 e 16 ou é hidrogenado diretamente a ácido esteárico (Mosley et al., 2002). Corl et al. (2002) demonstrou que o *trans*-7, *cis*-9 na gordura do leite é originado quase exclusivamente pela via de síntese endógena catalisada pela  $\Delta^9$  – dessaturase.

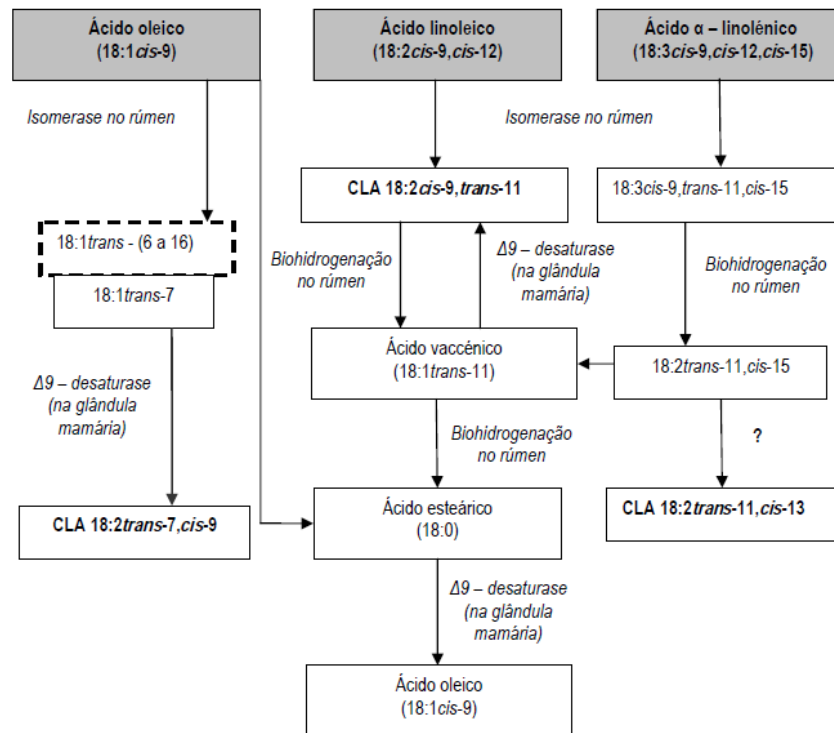


Figura 1: Principais vias metabólicas de formação de isômeros do CLA no leite (adaptado de Collomb *et al.*, 2006).

Os efeitos biológicos do CLA são variados e encontram-se atualmente sob intenso estudo. O CLA participa na modulação do sistema imunitário, desempenhando efeitos positivos ao nível da resposta linfocitária e macrofágica (Chew *et al.*, 1997; Wong *et al.*, 1997). O CLA poderá ainda atenuar as reações alérgicas induzidas pelos alimentos (Sugano *et al.*, 1998). Alguns estudos têm sugerido que o CLA é também capaz de modificar a composição corporal, parecendo desempenhar um papel importante como agente redutor de peso. Estes efeitos de emagrecimento são possivelmente mediados pela diminuição da deposição de gordura e pelo aumento da lipólise nos adipócitos (Bessa *et al.*, 2000; Prates e Mateus, 2002).

Apesar da diversidade dos potenciais efeitos biológicos do CLA, registrados em sua maioria em estudos com animais e da investigação em humanos ser menor, a contínua pesquisa servirá de base à compreensão dos mecanismos envolvidos nas diversas respostas biológicas, tanto na globalidade do CLA, como na diferenciação da atividade e efeito de cada um dos seus isômeros.

### 3.1.6 Colesterol

O colesterol (CHR) é o mais importante dos esteróis animais, sendo um álcool que pode ser esterificado; apresenta uma estrutura cíclica juntamente com uma estrutura alifática lateral e possui ao todo 27 átomos de carbono com uma dupla ligação em C5-C6 e uma função álcool no C3 hidroxila, pelo qual pode esterificar o carboxila dos ácidos graxos. Encontra-se em circulação, na forma livre ou na forma esterificada, sendo abundante nas lipoproteínas das membranas celulares (Ferreira, 1983).

As funções do colesterol são muito variadas: é um precursor dos hormônios esteroides sintetizados pelas glândulas supra-renais e pelas gônadas (testículos e ovários) e é ainda componente da membrana das células, podendo ser sintetizado pelo fígado (colesterol endógeno) (Breda, 2003).

O colesterol encontra-se em circulação nas lipoproteínas plasmáticas do sangue. Os seus valores excessivamente elevados estão relacionados com a aterosclerose e com as doenças cardiovasculares (Breda, 2003).

Todos os alimentos de origem animal contêm colesterol, alguns em concentrações elevadas (gemas de ovo), outros em quantidades médias (carne bovina) ou baixas (leite gordo) (Breda, 2003).

O conceito de que o colesterol da dieta contribui para a hipercolesterolemia e para o risco de doenças cardiovasculares, tem sido a base da política de saúde pública em relação às recomendações dietéticas.

Em nível de estudos clínicos, não é possível provar os efeitos do colesterol da dieta, na aterosclerose e DCV (Mcnamara, 2000); o consenso geral é que o colesterol da dieta não tem valor estatisticamente significativo, em relação ao seu pequeno efeito nos níveis de colesterol plasmático, sendo o nível de resposta deste CHR plasmático muito variável nas populações (Mcnamara, 1990; Weggemans et al., 1999).

Frente a não existência de estudos que validem o efeito independente do colesterol da dieta e o risco de DCV, prevalece o princípio da precaução, seguido pela União Europeia, a nível mundial, no sentido de restringir a ingestão diária de colesterol a um máximo de 300 mg/dia tal como foi proposto pela WHO (Organização Mundial de Saúde, 1990).

### 3.1.7 Recomendações nutricionais da fração lipídica

Sendo os ácidos graxos e o colesterol constituintes da gordura ingerida e considerando as suas atividades biológicas conhecidas, torna-se necessário a definição de parâmetros nutricionais que sirvam de ferramentas de avaliação da qualidade nutricional dos alimentos e particularmente daqueles com o teor de gordura significativamente elevado como são os queijos e a manteiga. Em nível de saúde pública, estas recomendações constituem uma medida de avaliação do valor nutricional das gorduras ingeridas e conseqüentemente a sua expressão na saúde e bem-estar das populações, nomeadamente na prevenção ou favorecimento da incidência de processos patológicos, com eles relacionados.

#### 3.1.7.1 Razão PUFA/SFA

A razão entre os ácidos graxos polinsaturados e os ácidos graxos saturados constitui um parâmetro de excelência na avaliação da qualidade nutricional.

De acordo com as recomendações do Department of Health, de 1994, (citados por Wood e Enser, 1997), o valor recomendado para uma dieta equilibrada é superior a 0,45.

Considerando que esta recomendação atribui aos AGS a responsabilidade do aumento do colesterol plasmático total, omitindo o papel dos MUFA na redução do mesmo (Santos-Silva et al., 2002), de acordo com o que já foi referenciado, houve necessidade de utilização de outro índice nutricional que em complementaridade, traduzisse de forma mais objetiva, a qualidade nutricional da gordura ingerida, nomeadamente o índice h/H (razão entre os ácidos graxos hipo e hipercolesterolêmicos).

#### 3.1.7.2 Razão AG-h/AG-H

A razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos constitui um índice que relaciona a atividade funcional dos ácidos graxos em relação a aspectos de metabolismo das lipoproteínas de transporte do colesterol plasmático, cuja quantificação reflete o maior ou menor risco de incidência de doenças cardiovasculares. Não havendo valores recomendados para o índice h/H em relação aos produtos lácteos, considera-se como referência o valor 2 em relação aos produtos cárneos (Santos-Silva et al., 2002), como aquele que exprime a relação ideal entre os ácidos graxos hipo e hipercolesterolêmicos. Valores superiores a esta referência correspondem a gorduras de superior qualidade nutricional,

traduzindo a abundância de ácidos graxos que promovem o abaixamento do colesterol plasmático (hipocolesterolêmicos) e assim a redução do risco de doença cardiovascular.

### 3.1.7.3 Índices de aterogenicidade e trombogenicidade

Os AG podem promover ou prevenir o aparecimento da aterosclerose e a trombose coronariana com base em seus efeitos sobre o colesterol sérico, e sobre as concentrações de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Ulbricht e Southgate, 1991). Estes dois índices, ambos propostos por Ulbricht e Southgate (1991) consideram os diferentes efeitos dos diferentes ácidos gordos na saúde humana, e podem ser calculados através de fórmulas:

$$IA = [(12:0) + (4 \times 14:0) + (16:0)] / [(PUFA n6 + PUFA n3) + MUFA]$$

$$IT = [(14:0) + (16:0) + (18:0)] / [(0,5 \times MUFA) + (0,5 \times PUFAn6) + (3 \times PUFAn3) + (PUFAn3 \times n6)]$$

Os índices de aterogenicidade (IA) e índice de trombogenicidade (IT) indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, isto é, quanto menores os valores de IA e IT maior é a quantidade de AG anti-aterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas (Turan et al., 2007). Não havendo valores recomendados para os índices de aterogenicidade e trombogenicidade, considera-se que valores mais baixos exprimem uma relação de ácidos graxos mais favorável em termos de saúde.

## 3.2 Uso de fontes lipídicas na alimentação animal

O uso de fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras é realizado com o objetivo de aumentar a densidade energética da dieta, além de oferecer benefícios como a melhoria na absorção de vitaminas lipossolúveis e fornecer ácidos graxos importantes para as membranas dos tecidos (Palmquist & Mattos, 2006). Assim, pode-se utilizar fontes de gordura da dieta com o intuito de aumentar ou melhorar o perfil de alguns ácidos graxos na gordura do leite, utilizando-se de alguns métodos de proteção contra o processo de biohidrogenação.

A utilização de gordura na dieta de vacas leiteiras se justifica pelo fato de que na fase inicial da lactação de vacas de alta produção existe um período de reduzida capacidade de ingestão de alimentos associado à elevada demanda de nutrientes para síntese de leite,

conhecido como fase de balanço energético negativo (BEN), impulsionados também pelo potencial genético e perfil hormonal dos animais neste período.

No sentido de tentar minimizar o balanço energético negativo, o uso de alimentos com elevada concentração de nutrientes é imperativo para compensar a reduzida capacidade ingestiva, mas não ocorre sem que efeitos negativos estejam presentes. O uso excessivo de alimentos concentrados, ricos em carboidratos não fibrosos, nessa fase da lactação, tende a alterar o perfil da fermentação ruminal, reduzindo o pH do rúmen e levando os animais a uma condição limítrofe para o surgimento de distúrbios metabólicos, principalmente acidose.

Resultados recentes têm mostrado que o fornecimento de dietas contendo alta inclusão de soja extrusada pode alterar a concentração e a composição da gordura do leite. A fonte de gordura fornecida e a sua “proteção” contra a hidrólise e a biohidrogenação ruminal aumentam a absorção intestinal de ácidos graxos polinsaturados e sua incorporação ao leite. A biohidrogenação incompleta é responsável ainda por aumentar a concentração de CLA no leite.

Diversas fontes lipídicas disponíveis em nosso meio têm sido pesquisadas em substituição aos carboidratos não fibrosos, com bons resultados (López, 2001; Nörnberg, 2003; Schafhäuser, 2005). As gorduras têm potencial para melhorar a eficiência de utilização da energia, em razão dos ácidos graxos pré-formados de origem dietética serem incorporados diretamente na gordura do leite, sem a perda de calor associado à síntese de ácidos graxos, poupando energia para outras funções produtivas da glândula mamária (Nörnberg, 2003).

Comumente a mistura de volumosos e grãos de cereais propicia dietas com cerca de 3% de extrato etéreo (EE) em porcentagem da matéria seca (MS), sendo possível elevar o teor de EE na dieta de vacas em produção até 6 – 7% sem que se observe prejuízos no que se refere à produção e composição do leite. Por conseguinte, 3 a 4% do extrato etéreo da dieta pode ser fornecido de forma complementar através da inclusão de gorduras (NRC – 2001). Entretanto, em experimento conduzido por Schafhäuser (2005), utilizando níveis crescentes de inclusão de óleo e farelo de arroz até o nível de 8% de extrato etéreo na dieta total de vacas leiteiras em lactação, não foi observado prejuízo para a saúde animal, bem como para a produção total de leite e sua composição.

Ao mesmo tempo, Santos (2002) fazendo referência ao uso de gordura na alimentação de vacas em lactação, cita que a suplementação destes animais com fontes de gordura ricas em certos ácidos graxos pode ser usada como forma de manipular o teor de gordura do leite e aumentar a concentração de ácido linoleico conjugado (CLA). Entre as fontes de gordura capazes de fornecer ácidos graxos insaturados se destacam os óleos vegetais e, dentre estes o

óleo de girassol apresenta-se como uma excelente opção, pois apresenta até 70% de ácidos graxos poliinsaturados em sua composição.

Assim, torna-se interessante para a indústria de lácteos e para o mercado consumidor produtos nutricionalmente enriquecidos ou adequadamente modificados. A inclusão de óleos ricos em ácidos graxos poliinsaturados na dieta dos animais surge com este propósito, fornecer aporte energético adequado aos animais e atrelado a isso, buscar retornos no leite produzido, com mudanças no perfil de ácidos graxos (maior participação de ácidos graxos poli-insaturados), tornando este leite mais interessante do ponto de vista de saúde dos consumidores. É interessante ainda que o retorno esperado no leite se reflita nos produtos lácteos, mas sem o surgimento dos efeitos negativos que esta maior proporção de ácidos graxos poli-insaturados pode causar, como prejuízos a estabilidade oxidativa.

Segundo Reis et al. (2004) e Gama (2010), a dieta é o fator que mais influencia os níveis de CLA total no leite e seus derivados produzidos por ruminantes. Os lipídeos das dietas dos ruminantes são provenientes de forragens, grãos e suplementos ricos em óleo. Dentre os alimentos, dietas à base de pasto são ricas em C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 (ácido  $\alpha$ -linolênico), representando 48 a 56% do total de AG. Silagens de milho e de capim são ricas em ácido linoleico (41%) ou ácido  $\alpha$ -linolênico (46%), respectivamente (Dhiman et al., 2005). Nos processos de fenação e ensilagem podem ocorrer perdas oxidativas de AGPI, principalmente do ácido  $\alpha$ -linolênico (Dewhurst et al., 2006), que nas plantas forrageiras é o principal substrato lipídico para a formação do ácido vacênico via processos de biohidrogenação no rúmen (Bargo et al., 2006; Elgersma et al., 2006). Por esta razão, o leite de vacas sob pastejo ou recebendo forrageiras frescas apresenta potencialmente maior relação de AGI:AGS, e maiores concentrações totais de AGPI e de CLA (em particular C18:2 *cis*-9, *trans*-11) que o obtido no leite de vacas alimentadas com forragens conservadas (Elgersma et al., 2006). Dietas suplementadas com lipídios na forma de óleos vegetais, como soja e girassol, podem ter maior efeito no aumento da concentração de CLA *cis*-9, *trans* 11 de produtos provenientes de ruminantes (Tanaka, 2005). A adição de ácidos graxos insaturados na dieta de vacas lactantes pode aumentar de forma natural o CLA *cis*-9 *trans* 11 e diminuir o teor de gordura no leite, melhorando assim a imagem dos produtos lácteos junto ao consumidor, uma vez que este está preferindo os alimentos que possuem menor teor de gordura (Santos et al., 2001).

As concentrações do CLA *cis*-9, *trans*-11 e ácido vacênico possuem correlação positiva no leite de vacas sob as mais diversas situações de manejo alimentar (Lawless et al., 1999). Para elevar a concentração de CLA *cis*-9, *trans* 11 na gordura do leite, deve-se prover



o rúmen de substratos ricos nos ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico (Grinari et al., 2000) Por outro lado, fontes vegetais ricas em ácido oleico também apresentam potencial para alterar positivamente o perfil da gordura do leite, embora em menor escala quando comparadas com aquelas ricas em ácido linoleico (Collomb et al., 2004a, 2004b). Vários trabalhos relataram que os maiores potenciais dos óleos ricos em ácido linoleico promoveram incrementos nos teores de CLA *cis*-9, *trans*-11 no leite de vacas, comparado a outras fontes de lipídios (Dhiman et al., 1997; Kelly et al., 1998; Collomb et al., 2004a, 2004b; Lopes et al., 2009).

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

A estabilidade oxidativa de produtos ricos em AG ômega 3 é, principalmente, devido ao seu alto grau de insaturação. Além disso, a oxidação dos lipídios ricos em AGPI pode ser determinada também pela organização estrutural destes ácidos graxos em triacilgliceróis e outros lipídios (Eldin et al., 2002). A adição de 400 mL diários de óleo de linhaça na dieta de vacas leiteiras alterou o perfil de AG do leite de vacas, aumentando os teores de AGPI, e também acelerando o processo de oxidação do leite (Cardozo, 2011).

A auto oxidação dos lipídios em produtos lácteos e, conseqüentemente, o ranço originado deste processo são relatados na literatura. Segundo Mallia et al.(2008), o enriquecimento da gordura do leite com CLA total e AGI confere maior valor nutritivo aos produtos lácteos. Por outro lado, estes componentes são passíveis de auto oxidação. As oxidações destes AG podem também levar à formação de produtos secundários, tais como hidrocarbonetos, aldeídos e cetonas, alterações do sabor e, conseqüentemente, redução da vida útil dos produtos lácteos. Alguns compostos detectados no ranço da manteiga resfriada sugeriram os ácidos linoleico, linolênico e araquidônico como seus precursores. Por outro lado, os padrões de auto oxidação de CLA ainda não são bem conhecidos e poucos estudos indicam os produtos secundários desta auto oxidação.

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

Quadro 1- Perfil de ácidos graxos de óleos vegetais utilizados na alimentação animal

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

Fonte: Adaptado de Willians (2000)

### 3.2.1 Óleo de girassol

O girassol (*Helianthus annuus*, L.) tem origem nas Américas, na região sudoeste dos Estados Unidos e Norte do México. No Brasil, a cultura do girassol encontra amplas condições de desenvolvimento, devido às boas condições de solo e de clima, que abrange de Norte a Sul do País (Montovani-Bett, 1999). O teor de óleo do girassol varia de acordo com o seu cultivar, entre 20 e 45% (Daghir et al., 1980; Kashani & Carlson, 1988; Silva, 1990).

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

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

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

Kelly et al. (1998) avaliaram o perfil de AG do leite de vacas que receberam dieta suplementada com OG, amendoim (OA) ou linhaça (OL), contendo, respectivamente, elevados teores dos ácidos linoleico, oleico e  $\alpha$ -linolênico. As concentrações de CLA *cis*-9, *trans*-11 foram de 2,44; 1,33; e 1,67 mg/100 g de AG, respectivamente, para o leite das vacas que receberam OG; OA e OL. Estes resultados demonstraram o grande potencial do OG em alterar positivamente o perfil de AG do leite de vaca.

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

### 3.3 Manteiga

De acordo com a Portaria no. 146, de 07 de março de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1996), entende-se com o nome de manteiga o produto gorduroso obtido exclusivamente pelo batimento e malaxagem, com ou sem modificação biológica de creme pasteurizado derivado exclusivamente do leite de vaca, por processos tecnologicamente adequados. A matéria gorda da manteiga deverá ser composta exclusivamente de gordura láctea. Como ingredientes opcionais, pode ser adicionado cloreto de sódio na concentração máxima de 2 g/100 g de manteiga e fermentos lácticos, no caso de manteiga maturada. A manteiga é uma emulsão de gordura em óleo. A gordura, fase contínua, determina principalmente as características físicas da manteiga e corresponde à proporção de 80 a 85% de sua composição. Cerca de 52% dessa gordura é saturada, 25% monoinsaturada e 3% poli-insaturada. O restante de sua composição é formado por sólidos não-gordurosos do leite e soro, que contem proteínas e minerais. Pode ainda conter ou não sal em quantidade que varia entre 0,8 e 2,0%. A manteiga possui elevado valor calórico, que oscila entre 7,0 e 7,9 kcal/g (Rodrigues, 2006).

A manteiga caracteriza-se por ter consistência sólida, pastosa à temperatura de 20°C, de textura lisa uniforme, untosa, com distribuição uniforme de água (umidade). A cor deve ser

branco amarelada, sem manchas ou pontos de outra coloração; sabor suave, característico, aroma delicado, sem odor e sabor estranhos (BRASIL, 1996).

A gordura láctea apresenta 98,3% de triglicerídios, 0,3% de diglicerídios, 0,03% de monoglicerídios, 0,1% de ácidos graxos livres, 0,8% de fosfolipídios, 0,3% de esteróis e traços de carotenóides e vitaminas lipossolúveis. Os ácidos graxos saturados de 4 a 18 carbonos constituem 70 – 75% do total de ácidos graxos. O ácido graxo saturado mais importante, do ponto de vista quantitativo, é o 16:0, perfazendo 25 – 30% do total, enquanto os ácidos 14:0 e 18:0 representam 10 – 13%. Os ácidos graxos insaturados correspondem a 25 – 30% do total de ácidos graxos. O ácido oléico (9c-18:1) é o principal ácido graxo cis-monoin saturado, representando 15 – 21% do total. Existem aproximadamente 0,5% de ácido 11c-18:1, enquanto as proporções de outros isômeros cis-18:1 são pequenas. Outros ácidos cis-monoin saturados aparecem em quantidades menores, mas significativas, a saber, 14:1 (1,0%) e 16:1 (1,5%). Os ácidos graxos poli-insaturados 18:2, 18:2 conjugado e 18:3 apresentam composição média de 1,5%, 1,2% e 1,0%, respectivamente (MacGibbon; Taylor, 2006).

A utilização de grãos de oleaginosas na alimentação de vacas leiteiras aumenta o nível de ácidos graxos poli-insaturados na gordura do leite, modificando as propriedades físico-químicas da manteiga (Bobe et al., 2003, Gonzalez et al., 2003). Middaugh et al. (1988) testaram o uso de dietas à base de grão de girassol na alimentação de vacas da raça Holandesa e observaram que a adição do grão na dieta proporcionou um aumento no teor de ácidos graxos poli-insaturados na gordura do leite e, como consequência, a manteiga apresentou-se mais macia, assim, pode-se notar a influência de um maior teor de ácidos graxos insaturados, de menor ponto de fusão, na textura das manteigas produzidas. O maior teor de ácidos graxos insaturados impera em uma melhor espalhabilidade do produto obtido.

Embora a manteiga possua vida de prateleira relativamente longa (90 – 120 dias, 4°C), é um produto susceptível à oxidação lipídica. O desenvolvimento da rancidez oxidativa deve-se principalmente à oxidação dos ácidos graxos insaturados, com a formação de peróxidos (Ozkanli; Kaya, 2007). Os principais produtos resultantes da decomposição dos hidroperóxidos são aldeídos saturados e insaturados, e em menor concentração, cetonas insaturadas, hidrocarbonetos saturados e insaturados e álcoois saturados e insaturados (O'Connor; O'Brien, 2006).

Vários fatores físicos, condições de processamento e armazenamento, constituintes químicos endógenos e exógenos e enzimas têm mostrado grande influência na taxa e extensão da oxidação lipídica na gordura láctea. Estes fatores incluem oxigênio, luz, íons metálicos,

tocoferóis, carotenóides, tióis, proteínas e enzimas, produtos de reações de escurecimento, constituintes da membrana do glóbulo de gordura, temperatura de armazenamento e atividade de água. O balanço entre os fatores pró-oxidantes e antioxidantes é crítico para a estabilidade oxidativa da gordura láctea (O'Connor; O'Brien, 2006).

Quadro 2: Composição nutricional da manteiga com e sem sal (valores por 100g de parte comestível)

<b>Descrição alimentos</b>	<b>Umidade (%)</b>	<b>Proteína (g)</b>	<b>Gordura (g)</b>	<b>Colesterol (mg)</b>	<b>Carboidrato (g)</b>	<b>Fibra Alimentar (g)</b>	<b>Cinzas (g)</b>
<b>Manteiga com sal</b>	15,8	0,4	82,4	201	0,1	NA	1,4
<b>Manteiga sem sal</b>	13,6	0,4	86,0	214	0,0	NA	0,1

Fonte: TACO- Tabela Brasileira de Composição de Alimentos- UNICAMP (2011).

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

### 3.4 Oxidação lipídica

Óleos, gorduras e alimentos que possuem estes ingredientes em sua formulação são susceptíveis a processos oxidativos. As reações de oxidação e a decomposição dos produtos da oxidação implicam na perda de qualidade e valor nutricional dos alimentos. O processo oxidativo pode ser inibido ou atrasado de várias formas, e a principal delas é através do uso de substâncias denominadas antioxidantes. Os antioxidantes são compostos naturais ou sintéticos, com estruturas químicas e mecanismos de ação diversos, capazes de retardar ou inibir, de forma significativa, a oxidação de qualquer substância oxidável. Os componentes celulares, principalmente a membrana celular, são susceptíveis a processos oxidativos. A maior susceptibilidade da membrana celular se deve ao elevado conteúdo de ácidos graxos insaturados, principais alvos das reações oxidativas. A oxidação lipídica em nível celular pode

estar relacionada com doenças coronarianas, aterosclerose, câncer e processos de envelhecimento. O sistema de defesa antioxidante endógeno é formado por compostos enzimáticos e não-enzimáticos, estando presentes tanto no organismo como nos alimentos ingeridos. A situação de estresse oxidativo caracteriza-se pelo desequilíbrio entre o sistema de defesa antioxidante e a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Havendo predomínio dessas espécies no meio, elas reagem com proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e, principalmente, com os lipídios, causando alterações nos mecanismos de homeostase celular, podendo levar à perda de sua funcionalidade. As lesões causadas pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio podem ser prevenidas ou reduzidas por meio da atividade de antioxidantes, que podem agir diretamente na neutralização da ação dessas espécies ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função.

A autooxidação dos lipídeos ocorre fundamentalmente devido a ácidos graxos polinsaturados e através de uma série de reações em cadeia de radicais livres, que tem as fases de iniciação, propagação e terminação (Rodriguez et al., 2007). Nos alimentos com alto conteúdo de lipídeos, em especial de ácidos graxos polinsaturados, a etapa mais importante é a formação e decomposição de hidroperóxidos que gera uma série de compostos oxidados como cetonas, aldeídos, alcanos e alcenos de baixo peso molecular e de alta volatilidade, que determinam o valor sensorial do alimento (rancidez). Os antioxidantes podem retardar a rancidez, mas não a impedem, porque a oxidação ocorre a baixas pressões de oxigênio e se torna inevitável (Aubourg et al., 2004).

Segundo Jadhav et al. (1996), a oxidação lipídica pode estar relacionada com doenças coronarianas, aterosclerose, câncer e processos de envelhecimento. Porém, nem sempre os processos de oxidação lipídica são prejudiciais, já que seus produtos são importantes na reação em cadeia a partir do ácido araquidônico (formação de prostaglandinas) e, portanto, na resposta inflamatória (Ferreira; Matsubara, 1997).

Oxidação lipídica é o termo utilizado para descrever uma sequência de alterações químicas resultantes da interação de lipídeos com o oxigênio (McClements e Decker, 2010). Os principais problemas decorrentes da oxidação dos lipídios são as alterações sensoriais que resultam em sabor e aroma desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para o consumo. A oxidação também pode acarretar perdas de AGPI, das vitaminas A, D, E e K, de carotenoides, de fitoesteróis e de outros antioxidantes. Além disso, pode haver danos aos aminoácidos e, conseqüentemente, às proteínas, com redução em sua solubilidade (Prado, 2008).

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

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

Os lipídios são provavelmente os mais susceptíveis da classe de biomoléculas atacadas pelos radicais livres. A destruição oxidativa (peroxidação lipídica) dos ácidos graxos poliinsaturados contidos nas membranas celulares é lesiva porque se processa como uma reação em cadeia perpetuadora (Olszewer, 1995). A peroxidação lipídica é a maior fonte de produtos citotóxicos, como os aldeídos, produzidos pela decomposição de hidroperóxidos. Os principais ácidos graxos que sofrem peroxidação lipídica na célula são o linoléico, o araquidônico e o docosahexanóico, além de outros ácidos graxos poliinsaturados (Andrade Jr. et al., 2005; Deshpande; Deshpande; Salunkhe, 1996).

Os lipídios dos alimentos contêm extensa variedade de AG, que diferem pelas propriedades químicas e físicas, como também na susceptibilidade à oxidação. Além disso, numerosos componentes não-lipídicos presentes podem co-oxidar ou interagir com os lipídios ou seus produtos de oxidação (Mendonça, 2009). A quantidade e disponibilidade de oxigênio afetam a oxidação dos lipídios, que ocorre com maior frequência quando o lipídio, oxigênio e catalisadores estão em contato. Esse parâmetro é afetado pela área superficial que os AG são expostos, aumentando a oxidação com o maior contato com o ar (Choe e Min, 2006). Em geral, a taxa de oxidação aumenta com o incremento da temperatura. A temperatura também influencia a relação entre a quantidade e a pressão parcial de oxigênio (Mendonça, 2009).

Os processos que utilizam temperaturas elevadas como a pasteurização e a esterilização aceleram a velocidade de reação. A refrigeração e/ou congelamento não paralisa a oxidação devido ao fato da solubilidade do oxigênio em solução aquosa aumentar em baixas temperaturas (Araujo, 2008). A luz visível e ultravioleta são promotores efetivos da oxidação. Durante esse processo, os fotossensores absorvem energia luminosa e transferem o

excesso de energia para o oxigênio tripleto ( $3O_2$ ) convertendo-o a singleto ( $1O_2$ ) (Nawar, 2000).

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

São diversas as consequências nutricionais da oxidação lipídica (Kirk, 1984; Ferrari, 1998), dentre elas: a destruição parcial dos AG linoleico e linolênico, a destruição parcial das vitaminas A, carotenóides e tocoferóis, destruição parcial da vitamina C (co-oxidação), formação de produtos secundários da oxidação lipídica (malonaldeído e outros compostos), formação de compostos de *Maillard*, capazes de reagir com biomoléculas (especialmente proteínas), diminuindo a absorção destas, irritação da mucosa intestinal por peróxidos, ocasionado quadros de diarreia e, conseqüentemente, reduzindo a capacidade de absorção de nutrientes e formação de lipídios oxidados que são antagonistas de diversos nutrientes, como tiamina, pantotenato de cálcio, riboflavina, ácido ascórbico, vitamina B12, tocoferóis, vitamina A, proteínas, lisina e aminoácidos sulfurados.

A estabilidade oxidativa, método para avaliação de qualidade de óleos e gorduras, não depende apenas da composição química, mas também da qualidade da matéria-prima, condições a que o produto é submetido durante o processamento e das condições de estocagem. Além destes fatores, a estabilidade oxidativa é influenciada também pelo teor de fosfolipídios e pigmentos no óleo, e das condições do processo de desodorização (Antoniassi, 2001). Os antioxidantes são substâncias naturalmente presentes ou adicionadas aos alimentos e que tem o potencial de reduzir a ocorrência de algumas consequências dos processos de oxidação ou prevenir a ocorrência dos processos. Os lipídeos do leite são protegidos contra a oxidação por antioxidantes naturais. Entre as enzimas antioxidantes, a glutathiona peroxidase atua sobre os hidroperóxidos. Durante a decomposição destes ocorre formação dos produtos secundários da oxidação, e alguns desses compostos são voláteis e responsáveis pela formação de odores e/ou gostos indesejáveis. A atividade da enzima depende da biodisponibilidade do mineral que, por sua vez, é dependente da fonte utilizada (Mallia et al., 2008).



## **4 ARTIGOS CIENTÍFICOS**

#### 4.1 Manuscrito 1

### **Produção de manteiga naturalmente enriquecida com ácidos graxos benéficos à saúde dos seres humanos**

\*a ser submetido a revista

---

\*O manuscrito está formatado conforme as normas exigidas pela revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) para submissão de artigos.

## **Produção de manteiga naturalmente enriquecida com ácidos graxos benéficos à saúde dos seres humanos**

**Resumo-** Objetivou-se a produção de manteigas naturalmente enriquecidas com ácidos graxos benéficos a saúde dos seres humanos, com a utilização de níveis crescentes de óleo de girassol na dieta de vacas Jersey. Utilizaram-se níveis de 2,3; 4,7 e 7,0% de óleo de girassol, em relação a uma dieta controle (sem inclusão de óleo) formulada de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo NRC (2001) com volumosos a base de silagem de milho e feno de alfafa e concentrado a base de milho e farelo de soja, totalizando diferentes níveis dietéticos de extrato etéreo (3,7-controle; 6,0; 8,4 e 10,7% na matéria seca), em delineamento quadrado latino 4x4 duplo, com períodos experimentais de 15 dias. As manteigas obtidas com leite dos diferentes tratamentos experimentais foram caracterizadas quanto ao perfil de ácidos graxos, composição centesimal (umidade, gordura, proteína e cinzas), colesterol, pH, cor, textura e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico. Os resultados mostraram que é possível a produção de manteigas diferenciadas nutricionalmente, com perfil de ácidos graxos benéficos a saúde dos seres humanos (alimento funcional/nutracêutico) com aumento substancial de ácidos graxos mono e poliinsaturados, incluindo os ácidos vacênico e linoleico conjugados, em especial com o nível de 7% de óleo de girassol na dieta. Além dos resultados positivos com respeito ao perfil de ácidos graxos, observou-se redução nos valores de colesterol e alterações desejáveis na textura, indicando melhor espalhabilidade (redução na firmeza e trabalho de corte), enquanto a composição centesimal manteve-se semelhante nos diferentes níveis de inclusão. O pH sofreu redução para os maiores níveis, mas os valores de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico não se alteraram. Conclui-se que a inclusão crescente de óleo de girassol na dieta de vacas jersey promove mudança no perfil de ácidos graxos das manteigas, com maior participação de ácidos graxos insaturados, menor teor de colesterol e melhor textura, sem no entanto, afetar a estabilidade oxidativa.

**Termos para indexação:** CLA; Oxidação; Poliinsaturados; Qualidade.

## **Butter production naturally enriched with fatty acids beneficial to human health**

**Abstract-** The objective of the butter production naturally enriched with beneficial fatty acids to human health, with the use of increasing levels of sunflower oil in the diet of Jersey cows. Used at levels of 2.3; 4.7 and 7.0% sunflower oil, compared to a control diet (without addition of oil) formulated according to the nutritional requirements (NRC, 2001) at the base of bulky corn silage and alfalfa hay and concentrate based on corn and soybean meal, totaling different levels of dietary lipids (3.7-control, 6.0, 8.4 and 10.7% of dry matter) in double 4x4 Latin square design, with after 15 days. Butters obtained from milk of different experimental treatments were characterized by fatty acid profile, chemical composition (moisture, fat, protein and ash), cholesterol, pH, color, texture and thiobarbituric acid reactive species. The results showed that it is possible to produce different butters nutritionally profile of beneficial fatty acids to human health (functional food / nutraceutical) with a substantial increase in mono- and polyunsaturated fatty acids, including conjugated linoleic and vaccenic acids, in particular with 7% level of sunflower oil in the diet. Besides the positive results with respect to the fatty acid profile, there was a reduction in cholesterol and desirable changes in texture, indicating better spreadability (reduction in firmness and cutting work) while the chemical composition remained similar at different levels inclusion. PH was reduced to the higher levels, but the values of thiobarbituric acid reactive species have not changed. It follows that

by the inclusion of sunflower oil in the diet promotes Jersey cows change in the fatty acid profile of butter, with a higher percentage of unsaturated fatty acids, reduced cholesterol and improved texture without, however, affecting the oxidative stability.

**Index terms:** CLA; Oxidation; Polyunsaturated; Quality.

## Introdução

Associada a crescente demanda mundial de leite e derivados, surgem demandas específicas por produtos lácteos diferenciados, com propriedades funcionais e/ou nutracêuticas, sendo a modificação no perfil de ácidos graxos, com incremento nos teores de ácidos graxos benéficos à saúde dos consumidores, um dos caminhos para aumentar a rentabilidade da cadeia produtiva do leite. Neste sentido, o teor e o perfil de ácidos graxos (AG) do leite e, conseqüentemente, de seus derivados podem ser alterados por meio da dieta fornecida aos animais, de modo a torná-los mais saudáveis do ponto de vista nutricional, com aumento de AG mono e polinsaturados, em especial do ácido linoleico conjugado (CLA- do inglês conjugated linoleic acid), em detrimento de ácidos graxos saturados, considerados prejudiciais a saúde dos seres humanos.

Como é comprovada a possibilidade de alterar a composição da gordura do leite pela dieta dos animais, pesquisas vem sendo realizadas com este intuito, a fim de tornar os produtos mais adequados ao consumo humano (Gama *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2009). É possível reduzir o conteúdo em ácidos graxos saturados no leite, considerados prejudiciais para a saúde humana, aumentando a proporção de AGPI na dieta dos respectivos animais (Geay *et al.*, 2001; Prates e Mateus, 2002). O fornecimento de fontes potenciais de ácidos graxos polinsaturados na dieta de vacas leiteiras, como os óleos vegetais, é uma forma de tentar manipular o perfil de ácidos graxos do leite produzido.

O óleo de girassol é um dos recursos possíveis de serem utilizados com esta finalidade devido a elevada concentração de ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12). Porém, o aumento da concentração dos AGPI pode reduzir a estabilidade oxidativa dos produtos, o que reflete na maior susceptibilidade à oxidação e ao menor prazo de validade. Embora proteínas, carboidratos e ácidos nucléicos sejam susceptíveis à oxidação, os ácidos graxos insaturados, por apresentarem maior instabilidade, são mais propensos ao processo oxidativo. Assim óleos, gorduras e alimentos que possuem estes ingredientes em sua formulação são susceptíveis a processos oxidativos.

Comumente a mistura de volumosos e grãos de cereais propicia dietas com cerca de 3-4% de extrato etéreo (EE) em porcentagem da matéria seca (MS), sendo possível elevar o teor

de EE na dieta de vacas em produção até 6 – 7% sem que se observem prejuízos no que se refere à produção e composição do leite. Por conseguinte, 3 a 4% do extrato etéreo da dieta pode ser fornecido de forma complementar através da inclusão de gorduras (NRC, 2001). Entretanto, experimento conduzido por Schafhäuser (2005), utilizando níveis crescentes de inclusão de óleo e farelo de arroz até o nível de 8% de extrato etéreo na dieta total de vacas em lactação, não foi observado prejuízo para a saúde animal, bem como para a produção total de leite e sua composição.

Neste contexto, objetivou-se produzir e avaliar a qualidade de manteigas com características de alimento funcional, naturalmente enriquecidas com ácidos graxos considerados, pela literatura científica atual, como benéficos a saúde dos seres humanos, através do fornecimento de níveis crescentes de óleo de girassol na dieta de vacas Jersey, porém, superiores aqueles até então registrados na literatura científica.

### **Material e Métodos**

O experimento de campo foi conduzido no sistema de Pecuária de Leite – SISPEL, localizado na Estação Experimental de Terras Baixas (EETB) da EMBRAPA Clima Temperado, situada no município de Capão do Leão – RS, no período de julho a novembro de 2012, enquanto as análises laboratoriais foram realizadas no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

Foram utilizadas oito vacas da raça Jersey, puras de origem, com duas ou mais lactações e datas de parto aproximadas, com produção média de 20kg de leite durante a lactação e peso vivo médio de 450kg. Os animais (unidades experimentais) foram alocados em baias individuais, de forma aleatória, sendo posteriormente sorteados os tratamentos. Foi empregado delineamento em quadrado latino (4X4) duplo, com 4 tratamentos e 4 repetições em cada quadrado, resultando em oito repetições por tratamento. Os tratamentos experimentais foram constituídos por diferentes níveis de inclusão de óleo de girassol na dieta (0; 2,7; 5,7 e 7,0%) totalizando diferentes valores de extrato etéreo (3,7; 6,0; 8,4 e 10,7% de extrato etéreo na matéria seca). Os períodos experimentais foram de 15 dias, com 10 dias de adaptação e 5 dias destinados a coletas.

Os animais foram mantidos em baias individuais com bebedouro contendo água potável à disposição e cocho para fornecimento de alimentos volumosos e outro para o

fornecimento do concentrado para cada baia. A alimentação volumosa consistiu de silagem de milho e feno de alfafa picado, numa proporção aproximada de 50:50, misturados previamente ao fornecimento. A quantidade diária ofertada de volumosos foi ajustada, durante os períodos de adaptação, de forma que ocorressem sobras no cocho superiores a 10%, como forma de estimular o consumo voluntário dos animais. O concentrado foi constituído de grão de milho, farelo de soja, farelo de trigo e sal mineral, formulado para suprir 100% das necessidades nutricionais estabelecidas pelo NRC (2001), tendo como único fator de variação a substituição proporcional dos alimentos energéticos a base de carboidratos não fibrosos por óleo de girassol, de tal forma que as dietas fossem semelhantes em proteína e fibra (fibra em detergente neutro)

As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia. Diariamente, antes de iniciar a ordenha, eram realizados testes com a caneca de fundo preto para verificação da presença de mastite clínica, e, quinzenalmente era feito o teste de CMT (California Mastitis Test) para verificação de mastite subclínica.

As coletas de leite, para confecção das manteigas, foram realizadas em dois dias consecutivos, nas duas ordenhas (manhã e tarde), nos dois últimos dias de coleta do experimento de campo. As manteigas foram produzidas por processo semi artesanal adaptado de Gonzales *et al.* (2003).

Os leites coletados de forma individual por animal foram armazenados em sua totalidade em recipientes adequados e pasteurizados. Foi utilizada a pasteurização lenta, na qual os leites foram aquecidos a 63-65°C por 30 minutos e após este período foram imediatamente resfriados a 4°C, permanecendo em repouso por 24 horas. Seguiu-se o mesmo procedimento com o leite da ordenha da tarde. Após as 24 horas de repouso era realizado o desnate manual dos leites pasteurizados e reunidas as natas da manhã e da tarde. As natas correspondentes a cada amostra, ou cada animal, em cada dia de coleta foram batidas em batedor caseiro por tempo padronizado previamente. Posteriormente, retirou-se manualmente o soro e as manteigas foram modeladas em formas de alumínio. As manteigas foram embaladas em papel alumínio, protegidas da luz, identificadas por animal e período de coleta, acondicionadas em embalagens plásticas individuais e armazenadas a temperatura de 4°C, em refrigerador doméstico até realização das análises laboratoriais.

Para caracterizar as manteigas confeccionadas de acordo com o nível de ingesta de óleo de girassol pelos animais, as amostras foram analisadas para determinação de sua composição centesimal (umidade, cinzas, proteína e gordura), perfil de ácidos graxos, cor, textura e colesterol. Foram realizadas, também, análises para determinar o *status* oxidativo

das manteigas produzidas, através da determinação do pH e das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

As determinações de umidade e de cinzas seguiram as técnicas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), enquanto a determinação do teor de proteína foi realizada pelo método Kjeldahl segundo a AOAC (2005) e, a extração de lipídeos totais (gordura) segundo Bligh & Dyer (1959), sendo os valores expressos em porcentagem (g/100g de amostra). Os ácidos graxos foram esterificados de acordo com a técnica descrita por Christie (1989) e analisados em cromatógrafo a gás da marca Agilent (modelo HP6890), equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar Supelco SP2560 (100m x 0,25mm x 0,2µm). A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras com o de padrões conhecidos (CLA: mistura constituída de ésteres do ácido octadecadienóico cis-9, trans-11 e cis-10, trans-12 Sigma; ácido graxo vacênico: éster metílico do ácido trans 18:1 Sigma; demais ácidos graxos mistura de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos - Supelco). Como padrão interno foi utilizado o ácido nonadecanóico. Os ácidos graxos foram quantificados em mg/g de amostra através de método validado por Simionato et al. (2010).

Após a quantificação de todos os ácidos graxos pertencentes às diferentes famílias, saturados, mono e polinsaturados (PUFA) n-6 e n-3, procedeu-se à avaliação nutricional da gordura das manteigas, com base em índices nutricionais recomendados pelos organismos oficiais de saúde e descritos na literatura científica.

O índice PUFA n-6/n-3 foi referenciado por diversos organismos internacionais do Institute of Medicine of the National Academies of Sciences dos EUA (IMNAS) e foi descrito pela seguinte relação:

$$\text{PUFA n-6/n-3} = \frac{18:2 \text{ n-6} + 18:3 \text{ n-6} + 20:3 \text{ n-6} + 20:4 \text{ n-6} + 22:4 \text{ n-6}}{18:3 \text{ n-3} + 20:5 \text{ n-3} + 22:5 \text{ n-3} + 22:6 \text{ n-3}}$$

O índice AG-h/AG-H, ou seja, relação entre ácidos graxos considerados com efeito hipocolesterolêmico (h) e os considerados com efeitos hipercolesterolêmicos (H) presentes na gordura do leite e de produtos lácteos (Dietschy, 1998 e Williams, 2000 citados por Santos - Silva et al., 2002) leva em conta os efeitos funcionais dos ácidos graxos, nomeadamente ao nível do metabolismo das lipoproteínas. Este índice foi traduzido pela seguinte relação:

$$\text{AG-h/AG-H} = \frac{18:1 \text{ c9} + \text{PUFA n-6} + \text{PUFA n-3}}{12:0 + 14:0 + 16:0}$$

O índice de aterogenicidade foi proposto em 1991 por Ulbricht e Southgate. Este índice relaciona os diferentes efeitos dos AG na saúde humana, nomeadamente o efeito aterogênico, definido pela seguinte equação:

$$IA = [(12:0) + (4 \times 14:0) + (16:0)] / [(PUFA n6 + PUFA n3) + MUFA]$$

O índice de trombogenicidade foi proposto pelos autores anteriores. Este índice considera o efeito trombogênico resultante da relação entre os diferentes efeitos na saúde humana dos vários AG. Assim, foi calculado a partir da equação:

$$IT = [(14:0) + (16:0) + (18:0)] / [(0,5 \times MUFA) + (0,5 \times PUFA n6) + (3 \times PUFA n3) + (PUFA n3 \times n6)]$$

A cor das manteigas foi determinada diretamente na superfície das amostras em triplicata pelo sistema CIELAB, utilizando-se aparelho Chroma Melter CR-300 (Minolta, Osaka, Japão). O equipamento foi calibrado e ajustado previamente para o espaço de cor L\* (porcentagem de luminosidade) a\* (onde -a\* representa índice de direção ao verde e +a\* representa índice de direção ao vermelho) e b\* (onde -b\* representa índice de direção ao azul e +b\* direção ao amarelo). A determinação dos valores de C\* e H° (croma métrica ou índice de saturação e ângulo de tonalidade métrica) ocorreu através de cálculos matemáticos.

As texturas das manteigas foram determinadas em triplicata, em amostras com 5mm de espessura, na temperatura de 5°C e de 23°C, usando-se texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, London, UK), com probe cônica de 40° em velocidade de 1m/s e retorno da probe a sua posição inicial na mesma velocidade. A força de penetração (G) foi reportada como firmeza e o valor de penetração da probe na amostra foi considerado como trabalho de corte (Bobe et al., 2003).

A leitura de pH das amostras foi realizada através da emulsão de uma alíquota da amostra de manteiga (1g) em 10mL de água destilada (diluição 1:10 p/v). O eletrodo do aparelho medidor de pH (DIGIMED, Modelo DM-23 DC- phmetro, São Paulo, Brasil) foi introduzido na emulsão para obtenção das leituras, em triplicata, após calibração do aparelho em pH 4,0 e 7,0 a temperatura de 25°C (IAL, 2008).

A determinação dos teores de colesterol das amostras foi realizada conforme metodologia enzimática, a qual se baseia na degradação do colesterol pela enzima colesterol-oxidase, produzindo peróxido de hidrogênio, que através de reação secundária produz cor. A intensidade da cor é diretamente proporcional a quantidade de colesterol na amostra (Pasin, et



al.,1998). Foram utilizados kits laboratoriais da Laborlab S/A conforme descrito por Saldanha, Mazali e Bragagnolo (2004) e após preparação das amostras por saponificação direta segundo Nogueira e Bragagnolo (2002) e modificada por Saldanha, Mazali e Bragagnolo (2004).

Para a determinação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi empregada metodologia conforme Botsoglou et al. (1994), com adaptações. Foram utilizados 2g de amostra, os quais foram transferidos para tubo de centrífuga, onde eram adicionados 8mL de TCA 5% (ácido tricloroacético) e 5 mL de BHT 0,8% (butilhidroxi tolueno). O conteúdo do tubo era levado ao turrax por 30 segundos, em velocidade alta, e após centrifugado por 3 minutos a 3000g. Após a centrifugação a fase superior correspondente ao hexano foi retirada e a fase inferior filtrada em papel Whatman nº2. O filtrado foi então completado para 10mL com TCA 5%. A partir deste filtrado, foi retirada uma alíquota de 2,5 mL e levada a um tubo de ensaio com adição de 1,5mL de solução aquosa de TBA 0,8% (ácido tiobarbitúrico). Os tubos foram incubados por 45 minutos a 100°C e após foram resfriados em água corrente. Após o resfriamento, as amostras foram levadas para leitura em espectrofotômetro a 532 nm contra prova em branco. Foi preparada, paralelamente, uma curva padrão, através de diluições apropriadas de uma solução aquosa de TEP(1,1,3,3tetraetoxipropano  $1 \times 10^{-3} \text{M}$ ) a fim de se obter concentrações de  $1 \times 10^{-8}$  a  $7 \times 10^{-8}$  moles de malonaldeído em 1 mL de solução. Estas soluções foram tratadas com o reativo de TBA, conforme realizado com as amostras e efetuadas leituras também na faixa de 532nm. A determinação dos valores de TBARS foi feita por comparação dos valores das absorbâncias das amostras com a equação retirada da curva, através de fórmula matemática e foram quantificadas em mol de malonaldeído (MDA) por kg de amostra.

Para avaliação do efeito da inclusão de diferentes níveis de óleo de girassol na dieta das vacas Jersey na qualidade das manteigas resultantes, foi utilizado delineamento inteiramente ao acaso, constituído de 4 tratamentos com 4 repetições, totalizando 16 unidades experimentais. Os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial em nível de 5% de significância, utilizando o software SAS versão 9.1.3.

## **Resultados e Discussão**

Os resultados referentes a composição centesimal das manteigas produzidas estão apresentados na Tabela 1. Todos os valores encontrados para a composição das manteigas

estão dentro dos valores estipulados no Regulamento de Identidade e Qualidade para produtos lácteos (Brasil, 1996) e não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos.

Os valores observados no presente estudo para o teor de gordura foram estatisticamente semelhantes, independente do tratamento e encontram-se de acordo com outras descrições da literatura. A adição de óleo de girassol na dieta não influenciou o teor de gordura ( $P>0,05$ ) das manteigas que apresentaram média de 82 g/100g. Ledoux *et al.* (2005) em estudo com manteigas produzidas em diferentes regiões da França e durante diferentes épocas do ano obtiveram teor médio de gordura de 83,6 g/100 g. Barros (2011) utilizou o óleo de girassol como fonte de lipídeos em níveis crescentes na dieta de vacas mestiças HolandêsXGir e encontrou teores de gordura entre 85,9 e 83,5 g/100g, mas que não foram influenciados pelos diferentes tratamentos.

O teor de umidade das amostras encontra-se de acordo com o proposto no Regulamento de Identidade e Qualidade (Brasil, 1996) que determina máximo de umidade de 16%.

A adição crescente de óleo de girassol nas dietas das vacas propiciou alteração no perfil de AG das manteigas (Tabela 2 e Tabela 3). Houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) para os diferentes tratamentos com consequente geração de equações de regressão para cada ácido graxo.

Observou-se que as concentrações dos AG de cadeia curta ( $<C10:0$ ) e média ( $C10:0$  a  $C18:0$ ) reduziram linearmente ( $P<0,05$ ) de acordo com a elevação do nível de óleo de girassol nas dietas. Entretanto os AG de cadeia longa ( $>C18:0$ ) apresentaram aumento linear ( $P<0,05$ ) em suas concentrações.

O perfil de AG do óleo de girassol, com elevado teor do ácido linoleico (em torno de 59,94%) e a biohidrogenação ruminal parcial ou incompleta, provavelmente, foram os responsáveis pelas respostas encontradas.

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

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

O aumento observado para a concentração do ácido oleico é importante do ponto de vista nutricional da manteiga, pois a este ácido graxo são atribuídos efeitos anti-colesterolêmicos (Tsimikas et al., 1999). Este resultado, provavelmente, foi devido ao teor de ácido oleico do óleo de girassol (aproximadamente 22% dos AG), como também a sua síntese na glândula mamária (Jenkins et al., 2008). Da mesma forma, o aumento do teor do ácido vacênico contribui para o melhor valor nutricional da manteiga, pois se trata do principal precursor do CLA *cis*-9, *trans*-11 na glândula mamária dos ruminantes. O aumento do ácido vacênico advém da biohidrogenação ruminal dos AGPI, principalmente do ácido linoleico, que é o ácido graxo com maior concentração no óleo de girassol.

Foi observado aumento linear ( $P < 0,05$ ) na concentração do CLA *cis*-9, *trans*-11 nas manteigas, propiciado pela adição crescente de óleo de girassol na dieta. Este aumento pode ser explicado pela elevação da concentração do ácido vacênico (C18:1 *trans*-11). O tratamento com inclusão de 10,7% de óleo de girassol elevou de 6,54mg/g para 30,89mg/g o teor de CLA nas manteigas em comparação ao nível de 3,7%. Já para o ácido vacênico observou-se uma elevação de 19,15mg/g para o nível de 3,7% para 104,11mg/g para o nível de 10,7%. Em trabalho realizado por Lopes et al. (2009), os aumentos nos teores do CLA *cis*-9, *trans*-11 e vacênico foram de 359 e 467%, respectivamente, nas manteigas propiciado pela adição crescente de óleo de soja na dieta. Estas respostas são consideradas benéficas devido às propriedades nutraceuticas atribuídas ao CLA *cis*-9, *trans*-11 como também ao potencial de produção deste em humanos a partir do ácido vacênico (Turpeinen et al., 2008). Outro aspecto relevante é a possibilidade de melhor valorização nutricional da manteiga que, por seu elevado teor de ácidos graxos, é associada apenas aos efeitos negativos que alguns destes podem causar à saúde humana.

A concentração do AGMI C18:1 *trans*-9 (elaídico) apresentou aumento linear ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente de óleo de girassol à dieta. Este efeito pode ser considerado negativo, haja vista, as propriedades cancerígenas atribuídas ao ácido elaídico (Bassett et al., 2010). Entretanto, é importante atentar para a relação entre ácido vacênico e elaídico (Tabela 3), na qual, no presente estudo foi possível observar aumento da relação com os maiores níveis de óleo de girassol. Tal fato pode ser explicado pelos altos teores alcançados de ácido

vacênico, que possibilitou a elevação da relação, mesmo com maiores teores de elaídico no nível de 10,7% em comparação ao nível de 3,7%.

Na Tabela 3 estão apresentadas relações entre os ácidos graxos que são interessantes para a saúde dos consumidores. Também estão demonstrados os valores obtidos de ácido linoleico conjugado (CLA), valores dos isômeros, CLA-1 e CLA-2 e valor total de CLA. Tais valores apresentaram diferença significativa de acordo com o tratamento e se apresentaram com teores além do que é registrado na literatura como compatível com leite e produtos lácteos até o momento, demonstrando assim um resultado positivo de acordo com os objetivos do estudo, de elevar os teores de ácidos graxos insaturados das manteigas, principalmente CLA, vacênico e outros ácidos graxos de interesse a saúde dos consumidores.

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

O teor médio de CLA no leite pode variar de 0,30 a 0,55g por 100g de ácidos graxos segundo Dhiman et al. (1999). Parodi (2003), em pesquisa sobre a composição de ácidos graxos, em especial o CLA, observou valores de 2 a 37 mg /100g de lipídeos. No presente estudo foram obtidos valores de CLA de 6,9 mg/g nas manteigas obtidas com o nível de 3,7% de EE e com os níveis mais altos de inclusão os teores chegaram a 31,32mg/g, ou seja, valores bem acima do descrito rotineiramente na literatura.

Em estudo realizado por Pestana (2007) o teor específico do CLA revelou diferenças significativas entre as manteigas analisadas. Relativamente aos teores específico do CLA variaram entre 8,08 a 10,05 mg/g de lipídios. Em relação a outros teores citados na literatura verifica-se valores de manteigas alemãs e italianas (9,4 mg/g de lípidos) (Fritsche e Steinhart, 1998; Precht e Molkentin, 2000), manteigas irlandesas (14,1 mg/g de lípidos), e da Nova Zelândia (11,0 mg/g de lípidos) (MacGibbon et al., 2001).

Os valores encontrados no presente estudo encontram-se compatíveis com os descritos variando de 0,31 no nível de 3,7% a 0,6 no nível de 10,68%. Já Souza et al. (2004) observaram valores inferiores, 0,41%. Segundo os padrões de referência, as recomendações do National Cholesterol Education Program (NEP) de 1989, sugerem que a relação (AGS/AGI) deve ser inferior a 1,0%, sendo seu principal objetivo a redução da morte por doença arterial coronariana e redução dos níveis de colesterol. Em relação inversa, ou seja,

proporção de saturados em relação a insaturados ocorre uma considerável redução desta relação no nível de 10,68% em relação ao nível de 3,7% (1,6 e 3,2 respectivamente) tais valores estariam próximos ao que seria considerável preventivo de doenças cardiovasculares.

Foi demonstrado que a dieta ocidental é relativamente deficiente em ácidos graxos n-3 e excessiva em ácidos n-6, o que está bem refletido na razão PUFA n-6/n-3 estimada em 10-25/1 (Prates e Mateus, 2002; Simopoulos, 2002). Este fato está diretamente implicado com o desenvolvimento de diversas doenças, como doenças cardiovasculares, câncer e doenças inflamatórias. O contrário se verifica, quando a ingestão de PUFA n-3 é adequada. A relação PUFA n6/n 3 apresentou aumento linear ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente de óleo de girassol nas dietas. De acordo com FAO (1994), valores abaixo de 10,0 sugerem quantidades desejáveis à dieta para a prevenção de riscos cardiovasculares.

Ulbricht e Southgate (1991), propuseram dois índices que avaliam os ácidos graxos relativamente ao seu efeito no metabolismo das lipoproteínas, índice de aterogenicidade (IA) e de trombogencidade (IT). Não existem valores recomendados para os índices de aterogenicidade e trombogencidade, no entanto, valores mais baixos exprimem uma relação de ácidos graxos mais favorável em termos de saúde. Foi o observado no presente estudo, onde foram encontrados valores reduzidos para as manteigas provenientes dos maiores níveis de inclusão de óleo de girassol em relação aos menores níveis (1,82 de IA para 10,68% de óleo e 3,65 para 3,7% de óleo, para o I.T observou-se redução de 2,58 para 1,81 com os níveis de 3,7 e 10,68% respectivamente). Em estudo desenvolvido por Pestana (2007), onde foram comparadas diferentes manteigas comercializadas na região dos Açores, em Portugal, a manteiga dos Açores obteve um IA de 2,54 e um IT de 7,40. O presente estudo apresentou valores menores destes índices o que está em conformidade com melhor qualidade nutricional. Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogencidade (IT) das manteigas apresentaram redução linear ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente de óleo de girassol nas dietas. A redução dos valores destes índices é importante para toda cadeia de lácteos, pois ocorreu tanto pela redução das concentrações dos ácidos mirístico e palmítico (aterogênicos e trombogênicos) quanto pelo aumento dos ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos polinsaturados, principalmente pelo CLA *cis*-9, *trans*-11.

Segundo Tonial et al. (2010), os IA e IT indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, ou seja, quanto menores os valores de IA e IT, maior é quantidade de AG anti-aterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e, conseqüentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas. Desta forma, a redução destes índices demonstra o potencial que existe para a produção de manteigas com valor

nutritivo mais adequado para a saúde humana, pois, comumente, este produto é referido apenas por seu teor de gordura total. Resultados semelhantes ao presente estudo foram relatados por Lopes et al. (2008) para IA: 3,01; 2,48; 2,00 e 1,88 e para IT: 2,83; 2,47; 2,27 e 2,15 e Ribeiro et al. (2011a) para IA: 2,56; 1,88; 1,56 e 1,38 e para IT: 1,68; 1,42; 1,27 e 1,22, respectivamente, em manteigas e leite para os tratamentos com 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de óleo de soja e óleo de girassol. No presente estudo os IA e IT foram reduzidos em 50 e 30%, respectivamente, de 3,7% para 10,68%, sendo esta redução maior que a relatada pelos autores acima, nos quais os IA e IT reduziram, respectivamente, em 37 e 24% (Lopes et al., 2008) e 46 e 27% (Ribeiro et al., 2011a), com os níveis crescentes de óleo utilizados.

A relação h/H das manteigas aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ) com a adição crescente de óleo de girassol. De acordo com Sousa Bentes et al. (2009) quanto maior a relação entre h/H mais adequado nutricionalmente é o óleo ou a gordura dos alimentos. No presente estudo houve aumento de 33% nesta relação entre as manteigas oriundas do leite das vacas que receberam 3,7% para que as que receberam 10,68%. Portanto, estes resultados sugerem que a adição crescente de óleo de girassol tornou o perfil de ácidos graxos das manteigas com maior potencial para prevenir o aumento do colesterol sérico, principalmente do LDL e, conseqüentemente, reduzir o risco de doenças cardiovasculares (Ascherio e Willett, 1995).

Silva-Hernández et al. (2007) trabalharam com vacas que receberam dietas contendo ou não (controle) semente de girassol (11,7% da matéria seca). Os IA (1,3) e IT (2,3) foram, respectivamente, 38,4 e 17,8% menores para os produtos originados do leite de vacas suplementadas com semente de girassol comparados aos IA (2,1) e IT (2,8) propiciados pela dieta controle.

Lopes et al. (2008) e Ribeiro et al. (2011) determinaram os IA e IT em manteigas oriundas de vacas que receberam níveis crescentes de óleo de soja e girassol na dieta em dietas baseadas em capim elefante. Segundo estes autores houve redução linear ( $P < 5\%$ ) nos IA e IT, demonstrando o potencial destas dietas em permitir a produção de leite mais saudável do ponto de vista de saúde humana.

Muitos estudos revelaram que não poderá existir apenas uma razão ótima n-6/n-3, mas sim várias, uma vez que as doenças crônicas possuem um caráter multigênico e multifuncional. Por exemplo, na prevenção secundária das doenças cardiovasculares, uma razão de 4/1 foi associada com a redução de 70% da mortalidade total. Também a razão 2,5/1 demonstrou ser capaz de reduzir a proliferação celular em doentes com câncer, assim como a razão 2-3/1, provou ser eficaz na redução inflamatória em doentes com artrite reumatóide. Em casos de asma, a razão n-6/n-3 que demonstrou maior eficácia, foi de 5/1 (Simopoulos, 2002).

A Tabela 4 demonstra os valores encontrados para os parâmetros de cor instrumental. Foi possível observar diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para os diferentes tratamentos. Barros (2011) em estudo realizado com vacas mestiças das raças Holandesa e Gir encontrou valores inferiores para todos os parâmetros de cor encontrados neste estudo. O parâmetro  $b^*$ , que quando possui sinal + indica tendência ao amarelo, apresentou valores até 50% maiores, tal fato pode ser explicado pela coloração amarela mais acentuada dos produtos lácteos oriundos da raça Jersey, por essa raça ser característica de menor conversão de carotenos em vitamina A, ou seja, maior teor de pigmentos presentes, coloração amarela mais acentuada dos produtos, principalmente em comparação com outras raças como a Holandesa ou a Gir.

As condições de processamento e confecção das manteigas foram controladas, tanto quanto possível, mas pode ter contribuído para variações de cor. Além disso, as diferenças de cor entre as manteigas com maiores teores de ácidos graxos insaturados podem ser devido a fatores como a cor do óleo suplementado na dieta, fonte de ácidos graxos alimentares e reações de oxidação. Noakes et al (1996) observaram ligeiras diferenças de cor em produtos lácteos (leite, manteiga, queijo e sorvete) com um maior teor de ácidos graxos insaturados. Kaya (2000) encontrou mudanças de cor no *butter oil* relacionadas a reações de oxidação. No presente estudo, não houve aumento nos teores de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, (TBARs) demonstrado na Tabela 6, não indicando assim início de processos oxidativos e não sendo possível atribuir as mudanças de cor a reações de oxidação.

A Tabela 5 apresenta os valores obtidos para o conceito de textura das manteigas. Houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), com os menores valores de firmeza e trabalho de corte para os maiores níveis de inclusão de óleo de girassol. Houve diferença também entre as temperaturas, a temperatura de 5°C, simulando a temperatura de armazenamento em refrigerador apresentou valores maiores que os observados para a temperatura de 23°C, que simularia as condições ambientes. Segundo Bobe et al. (2003), o uso de grãos de oleaginosas na dieta de vacas leiteiras aumenta o nível de ácidos graxos poli-insaturados na gordura do leite, modificando as propriedades físico-químicas da manteiga (Gonzalez et al., 2003). Middaugh et al. (1988) testaram o uso de dietas à base de grão de girassol na alimentação de vacas da raça Holandesa e observaram que a adição do grão na dieta proporcionou um aumento no teor de ácidos graxos insaturados na gordura do leite e, como consequência, a manteiga apresentou maior quantidade desses ácidos graxos tornando-se mais macia, quando comparado com o tratamento controle, tal observação foi o observado no presente estudo. Em estudos realizados por Bobe et al. (2003) chegou-se a conclusão que a

variação na dieta dos animais é suficiente para produzir manteigas com propriedades diferentes de textura.

Outros estudos (Stegeman et al , 1992; Lin et al , 1996b ; Cinzas et al , 1997; Bayourthe et al , 2000; Baer et al , 2001) também indicaram que a modificação do perfil dos ácidos graxos na gordura láctea, pela adição de suplementos de gordura insaturada para os bovinos resultou em manteigas mais macias

Ashes et al. relataram mudanças na temperatura e tempo de agitação em manteigas mais macias. Em estudo realizado por Gonzalez et al (2003), o leite teve que ser removido com cuidado durante a agitação de manteigas com maiores teores de ácidos graxos insaturados, porque elas eram muito macias. Observou-se também que a manteiga produzida com altos teores de ácido oleico e altos teores de ácido linoleico foi necessário mais tempo para atingir a consistência e textura normalmente alcançada durante o processamento de manteiga tradicional (manteiga controle) revolto, assim os autores concluíram que a composição de ácidos graxos afeta as propriedades texturais, como firmeza. Aumentando espécies de ponto de fusão baixo (ácidos graxos saturados de cadeia curta e ácidos graxos insaturados de cadeia longa) e diminuindo o teor de ácidos graxos saturados de cadeia longa em gordura láctea diminui-se o ponto de fusão e índice de gordura sólida (Kaylegian e Lindsay , 1995), tornando assim as manteigas mais macias.

A tabela 6 apresenta resultados do presente estudo relacionados ao valor de pH, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e teores de colesterol. Valor de pH e colesterol apresentaram diferenças significativas ( $p < 5\%$ ) em relação ao nível de inclusão de óleo de girassol, mas TBARS não apresentou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) de acordo com o tratamento.

Efeito semelhante foi encontrado por Paschoal et al (2007), em que não foi observado efeito estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) de dietas experimentais sobre TBARS em estudo realizado comparando a estabilidade oxidativa do leite de vacas alimentadas com soja extrusada e selênio orgânico. 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, sem, no entanto, afetar estatisticamente a sua oxidação lipídica. Os mesmos autores observaram diferenças ( $p < 0,05$ ) para o efeito tempo, em que os valores de TBARS foram maiores 96 horas após a colheita do leite, quando comparado aos tempos 0 e 24 horas. Os resultados obtidos por Paschoal et al (2007) estão de acordo com os observados por King (1962). Esse autor correlacionou os valores de TBARS ( $Abs_{532}$ ) com características organolépticas do leite e concluiu que valores de TBARS, entre 0,010 e 0,023, não apresentaram "flavor" oxidado;



entre 0,024 e 0,029 apresentaram "flavor" oxidado questionável; entre 0,030 e 0,040 apresentaram "flavor" oxidado leve; entre 0,041 e 0,055, "flavor" oxidado forte, e, TBARS>0,056, apresentaram "flavor" oxidado muito forte. Em relação aos resultados observados no presente estudo e transpondo para absorvância a 532nm, não houve diferença significativa entre os tratamentos para os valores de TBARS e avaliando todos os valores não foi observado aparecimento de "flavor oxidado".

Em relação aos valores de pH houve queda nos valores a medida que houve aumento na inclusão de óleo de girassol.

Os teores de colesterol se mostraram estatisticamente diferentes de acordo com o tratamento, sendo os menores teores observados nos níveis maiores de inclusão de óleo de girassol (168,76mg/100g de amostra para o nível de 10,68% em contrapartida de 194,14mg/100g de amostra para o menor nível, 3,7%). Pestana (2002) analisando três marcas comerciais de manteigas da região dos Açores, Portugal encontrou teores de colesterol em torno de 300mg/100g de manteiga. Os valores encontrados no presente estudo estão abaixo, indicando uma qualidade nutricional diferenciada.

Segundo as recomendações dietéticas internacionais, o consumo diário de colesterol pelo homem não deve exceder os 300 mg de colesterol (FAO, 1994). Consultando a tabela de alimentos publicada em 2006 pelo INSA, o valor de colesterol total para a manteiga com sal foi de 2,3 mg/g manteiga, valor semelhante ao registrado neste estudo.

### **Conclusões**

Manteigas produzidas com leite de vacas sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta apresentaram perfil diferenciado de ácidos graxos, com maior participação de ácidos graxos insaturados e de interesse a saúde dos consumidores como ácido linoleico conjugado e vacênico, mostrando assim a possibilidade de produção de manteigas enriquecidas com ácidos graxos benéficos a saúde dos seres humanos através de modificações na dieta dos animais. Além da melhoria no perfil dos ácidos graxos foram observados outros benefícios a qualidade das manteigas como menores teores de colesterol e textura diferenciada. O perfil diferenciado de ácidos graxos com a maior participação de insaturados levou a alterações nos parâmetros de cor dos produtos, mas não foi possível atrelar tal efeito a ocorrência de oxidação, constatado por níveis constantes de TBARS. Assim não foram observadas alterações no valor nutricional que pudessem comprometer a qualidade e aceitabilidade pelos consumidores.

## Referências

- AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists. 18<sup>a</sup> edição. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- BARROS, P. A. V. Perfil de ácidos graxos, propriedades nutricionais e estabilidade oxidativa de manteigas do leite de vacas alimentadas com cana-de-açúcar suplementada com óleo de girassol. **Dissertação**. Mestrado em Ciência Animal. Universidade Federal de Minas Gerais, 59f, 2011.
- BOBE, G.; HAMMOND, E. G.; FREEMAN, A. E.; LINDBERG, G. L.; BEITZ, D. C. Texture of Butter from Cows with Different Milk Fatty Acid Compositions. **Journal of Dairy Science**, v.86, nº10, p.3122-3127, 2003.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.
- BRASIL. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento. Aprova os Regulamentos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1996.
- CHICHLOWSKI, M.W., SCHOROEDER, J.W., PARK, C.S. et al. Altering the Fatty Acids in Milk Fat by Including Canola Seed in Dairy Cattle Diets. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.3084–3094, 2005.
- CHRISTIE, WW. Gas chromatography and lipids. Ayr: The Oily Press, Scotland., p. 162, 1989.
- COLLOMB, M., SCHMID, A.; SIEBER, R.; WECHSLER, D.; RYHANEN, E. Conjugated linoleic acids milk fat: Variation and physiological effects. **International Dairy Journal**, v.16, n. 11, p.1347-1361, 2006.
- CONEJERO, M. A.; CÔBSOLI, M. A.; NEVES, M. F. O setor agroindustrial de leite no Brasil. In: CÔNSOLI, M. A.; NEVES, M. F. (Coord.). Estratégias para o leite no Brasil. São Paulo: **Atlas**, p. 154-211, 2006.
- DEWHURST, R.J.; SHINGFIELD, K.J; LEE, M.R.F. et al. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, n.3, p.168–206, 2006.
- EIFERT, E.C., LANA, R.P., LANNA, D.P.D., TEIXEIRA, M.A., ARCURI, P.B., LEAO, M.I., OLIVEIRA, M.V.M., VALADARES FILHO, S.C. Perfil de ácidos graxos e conteúdo de ácido linoleico conjugado no leite de vacas alimentadas com a combinação de óleo de soja e fontes de carboidratos na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia** **35**, p. 1829-1837, 2006.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION Fats and Oils in Human Nutrition Divisão de publicações FAO, Roma, Itália. ISBN 92-5-10., p. 3621-3627, 1994.

FUKE, G.; NORBERG, J. L.; RODRIGUES, I. L.; SOUZA, A. P. B.; NOVACK, M. E.; BEZERRA, A. S. Teor de CLA em leites produzidos em diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 19, n. 2, p. 109-113, 2012.

GAMA, M.A.S.; LOPES, F.C.F.; RIGUEIRA, J.C.S. et al. Perfil de ácidos grasos y estabilidad oxidativa de mantecas elaboradas con leche de vacas que reciben dietas con aceite de soja. **Tecnología Láctea Latinoamericana**. p. 54-57, 2008.

GEAY, Y., BAUCHART, D., HOCQUETTE, J.F. e CULIOLI, J. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. **Reproduction Nutrition Development**., v. 41, p. 1-26, 2001.

GONZALES, S.; DUNCAN, S.E.; O'KEEFE, S.F. et al. Oxidation and textural characteristics of butter and ice cream with modified fatty acid profiles. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.1, p.70-77, 2003.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª edição, 1ª edição digital. SES - CCD -IAL (Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças), São Paulo, p. 98, 2008.

LEDOUX, M.; CHARDIGNY, J. M.; DARBOIS, M.; SOUSTRE, Y.; SEBEDIO, J. L.; LALOUX, L. Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, n. 5, p. 409-425, 2005.

LOPES, F.C.F.; RIBEIRO, C.G.S.; RIBEIRO, M.T. et al. Milk fatty acid profile from dairy cows fed increasing levels of soybean oil in diets based on tropical forage. In: XITH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY. 11. 2009. Clermont-errant. **Proceedings...** Wageningen: Wageningen Academic Publishers, p.588-589, 2009.

LÓPEZ, S. E. Suplementação com diferentes fontes de gordura para vacas Jersey de alta produção na fase inicial da lactação. **Tese** (Doutorado em Zootecnia)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 176f, 2001.

MARTINS, S.V.; LOPES, P.A.; ALFAIA, C.M.; RIBEIRO, V.S.; GUERREIRO, T.V.; FONTES, C.M.; CASTRO, M.F.; SOVERAL, G.; PRATES, J.A. Contents of conjugated linoleic acid isomers in ruminant-derived foods and estimation of their contribution to daily intake in Portugal. **British Journal Nutrition**, v. 98, n. 6, p.1206-1213, 2007.

MOLKENTIN, J. (2000) - Occurrence and biochemical characteristics of natural bioactive substance in bovine milk lipids. **British Journal of Nutrition**.; n. 84, Suppl.1, p. 47-53, 2000.

NEVES, C.A.; DOS SANTOS, W.B.R.; SANTOS, G.T. et al. Production performance and milk composition of dairy cows fed extruded canola seeds treated with or without linosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v.154, p.83-92, 2009.

NOGUEIRA, G.C., BRAGAGNOLO, N. Assessment of methodology for the enzymatic assay of cholesterol in egg noodles. **Food Chemistry**., v. 79, p. 267-270, 2002.

NÖRNBERG, J. L. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey na fase inicial de lactação. 2003. 199f. **Tese** (Doutor em Zootecnia)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2003.

PETIT, H.V. Digestion, Milk Production, Milk Composition, and Blood Composition of Dairy Cows Fed Whole Flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1482–1490, 2002.

PESTANA, J. M. A. Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos Açores. **Dissertação**. Mestrado em Controle de Qualidade e Toxicologia dos Alimentos. Universidade de Lisboa. Faculdade de Farmácia. Lisboa, Portugal, 133p, 2007

SCHAFHÄUSER, J. JR. Níveis crescentes de gordura de arroz para vacas leiteiras de alta produção no início da lactação. 2005. 140f. **Tese** (Doutor em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2005.

SALDANHA, T.; MAZALLI, M. R.; BRAGAGNOLO, N. Avaliação comparativa entre dois métodos para determinação do colesterol em carnes e leite. **Ciência e Tecnologia Alimentos**. Campinas, v. 24(1), p.109-113, 2004.

SIMIONATO, J. I.; GARCIA, J. C.; SANTOS, G. T.; OLIVEIRA, C. C.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E. Validation of the Determination of Fatty Acids in Milk by Gas Chromatography. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 21, nº 3, p. 520-524, 2010.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**., v. 56, p. 365-379, 2002.

Tabela 1- Composição centesimal de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%)

NOG <sup>(1)</sup>	Umidade	Gordura	Proteína	Cinzas	Carboidratos	Total
0%	15,59	82,66	0,72	0,14	1,03	100
2,3%	15,68	82,65	0,74	0,27	0,93	100
4,7%	15,49	82,81	0,71	0,22	0,78	100
7,0%	15,69	82,23	0,70	0,27	1,12	100
P	NS*	NS*	NS*	NS*	NS*	NS*

\*NS- Não significativo

<sup>(1)</sup>Nível de óleo de girassol

Tabela 2- Perfil de ácidos graxos, quantificados em mg/g, de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%)

	Nível de Óleo de Girassol				P	R <sup>2</sup>	CV	Eq. Regressão
	0%	2,3%	4,7%	7,0%				
<b>C4:0</b>	30,99	30,76	29,25	28,21	<0,0001	0,77	2,09	y=-0,4175trat+32,8130
<b>C6:0</b>	17,02	17,02	15,81	15,03	0,0004	0,63	3,93	y=-0,3047trat+18,4205
<b>C8:0</b>	11,03	10,01	9,00	8,20	<0,0001	0,85	4,89	y=-0,4093trat+12,4977
<b>C10:0</b>	25,92	23,89	20,39	16,74	<0,0001	0,91	5,13	y=-1,3156trat+31,2280
<b>C11:0</b>	3,42	2,60	1,40	1,03	<0,0001	0,89	15,85	y=-0,3654trat+4,7268
<b>C12:0</b>	29,29	28,60	24,98	21,68	<0,0001	0,87	4,38	y=-1,1137trat+34,1867
<b>C13:0</b>	1,59	1,27	1,00	0,73	<0,0001	0,84	12,52	y=-0,1223trat+2,0285
<b>C14:0</b>	100,38	95,30	91,72	88,15	<0,0001	0,95	1,14	y=-1,7362trat+106,358
<b>C14:1</b>	6,18	5,96	5,08	3,89	<0,0001	0,79	8,30	y=-0,3216trat+7,608
<b>C15:0</b>	9,25	8,15	6,37	5,28	<0,0001	0,95	5,03	y=-0,589trat+11,4981
<b>C16:0</b>	287,12	272,66	255,50	238,42	<0,0001	0,94	1,84	y=-6,9694trat+313,615
<b>C16:1 n7</b>	7,56	8,36	10,03	11,15	<0,0001	0,94	4,09	y=0,5318trat+5,4468
<b>C17:0</b>	5,88	5,98	4,37	4,18	0,0003	0,65	11,31	y=-0,2918trat+7,1950
<b>C17:1</b>	0,91	0,93	0,94	1,10	0,0025	0,52	6,30	y=0,0231trat+0,80175
<b>C18:0</b>	112,70	114,35	124,82	135,47	<0,0001	0,88	2,81	y=3,30476trat+97,9147
<b>C18:1 n9t</b>	6,06	8,12	10,18	10,82	<0,0001	0,93	5,95	y=0,7178trat+3,6612
<b>Vacênico</b>	19,15	46,92	79,06	104,11	<0,0001	0,98	7,20	y=12,3436trat-26,4217
<b>C18:1 n9c</b>	125,11	131,65	140,49	141,64	0,0002	0,67	3,63	y=2,5786trat+116,206
<b>C18:2 n6t</b>	0,79	0,96	1,08	1,25	<0,0001	0,80	8,53	y=0,0638trat+0,5605
<b>C18:2 n6c</b>	16,13	17,60	20,13	22,85	<0,0001	0,87	5,26	y=0,96121trat+12,2380
<b>C20:0</b>	1,27	1,26	1,23	1,21	NS*			
<b>C18:3 n6</b>	0,82	0,92	1,02	1,16	<0,0001	0,91	4,20	y=0,04761trat+0,6371
<b>C20:1</b>	0,17	0,41	0,51	0,65	<0,0001	0,91	13,20	y=0,066trat-0,04125
<b>C18:3 n3</b>	3,68	3,51	3,11	3,36	0,0118	0,40	6,28	y=-0,06406trat+3,8633

\*Não significativo

Tabela 3- Perfil de ácidos graxos, quantificados em mg/g, de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%)

	Nível de Óleo de Girassol				P	R <sup>2</sup>	CV	Eq. Regressão
	0%	2,3%	4,7%	7,0%				
<b>CLA 1</b>	6,54	8,21	14,78	30,89	<0,0001	0,79	32,36	y=3,2550trat-8,6084
<b>CLA 2</b>	0,35	0,32	0,33	0,43	0,0164	0,48	13,38	y=0,006trat <sup>2</sup> -0,081trat+ 0,568
<b>C21:0</b>	0,65	0,64	0,55	0,89	0,0009	0,69	11,41	y=0,016trat <sup>2</sup> -0,206trat+ 1,222
<b>C20:2</b>	0,19	0,33	0,45	0,53	<0,0001	0,96	7,47	y=0,04934trat+0,01845
<b>C22:0</b>	0,63	0,67	0,68	0,81	0,0009	0,59	7,72	y=0,02332trat+ 0,52566
<b>C20:3 n6</b>	0,62	0,62	0,60	0,74	0,0196	0,35	7,60	y=0,01313trat+ 0,54455
<b>C20:3 n3</b>	0,64	0,60	0,59	0,72	0,0008	0,66	5,69	y=0,001trat <sup>2</sup> -0,106trat+ 0,918
<b>C20:4 n6</b>	0,69	0,71	0,70	0,79	NS			
<b>C22:2</b>	0,09	0,09	0,08	0,11	NS			
<b>C24:0</b>	0,37	0,41	0,51	0,61	<0,0001	0,85	8,39	y=0,03441trat+ 0,22307
<b>C20:5 n3</b>	0,05	0,05	0,11	0,10	0,0271	0,32	46,43	y=0,00905trat+ 0,01366
<b>C22:6 n3</b>	1,30	1,85	1,04	1,72	NS			
<b>Sat.*</b>	637,49	613,55	587,55	566,64	<0,0001	0,95	1,07	y=-10,25974trat+ 675,05314
<b>Ins.*</b>	197,00	238,11	290,31	338,00	<0,0001	0,97	3,43	y=20,31684trat+ 119,58660
<b>Ins./Sat.</b>	0,31	0,39	0,49	0,60	<0,0001	0,97	4,67	y=0,04185trat+ 0,14530
<b>CLA total</b>	6,90	8,53	15,11	31,32	<0,0001	0,79	31,78	y=3,26366trat -8,31780
<b>CLA/Vac.</b>	0,36	0,18	0,19	0,30	<0,0001	0,88	12,18	y=0,013trat <sup>2</sup> -0,205trat+ 0,913
<b>h/H**</b>	0,38	0,42	0,49	0,59	<0,0001	0,92	5,22	y=0,02948trat+ 0,25608
<b>n6/n3**</b>	3,41	3,53	5,04	4,66	0,0015	0,55	14,09	y=0,23834trat+ 2,46653
<b>Vac./El.***</b>	3,17	5,79	7,78	9,65	<0,0001	0,95	9,20	y=0,92335trat-0,03764
<b>IA****</b>	3,65	2,87	2,23	1,82	<0,0001	0,97	4,64	y=-0,26627trat+ 4,54928
<b>IT****</b>	2,58	2,20	2,26	1,81	0,0003	0,65	8,37	y=-0,09288trat+ 2,88272

\* Teor total de ácidos graxos Saturados e Insaturados, NS= não significativo

\*\* Relação entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicas e relação entre ácidos graxos polinsaturados n6 e n3

\*\*\* Relação entre o ácido graxo vacênico e o ácido graxo elaídico

\*\*\*\* Índice de Aterogeneidade (I.A) e Índice de Trombogeneidade

Tabela 4- Parâmetros de cor instrumental (L\*, a\*, b\*, C\*, H\*) de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%).

	Nível de Óleo de Girassol				P	R <sup>2</sup>	CV	Eq. Regressão
	0%	2,3%	4,7%	7,0%				
<b>L*</b>	92,47	91,32	91,59	93,71	0,0218	0,4063	1,29198	y=0,1519trat <sup>2</sup> -2,016trat+97,88
<b>a*</b>	-2,10	-2,65	-2,68	-3,57	<0,0001	0,7456	10,80867	y=-0,18358trat-1,4178
<b>b*</b>	33,94	31,56	32,10	35,81	0,0007	0,6593	3,85755	y=0,2830trat <sup>2</sup> -3,8079trat+44,175
<b>C*</b>	34,05	31,67	32,21	35,98	0,0006	0,6645	3,8397	y=0,2839trat <sup>2</sup> -3,8071trat+44,229
<b>H*</b>	-1,50	-1,49	-1,49	-1,47	<0,0001	0,7881	0,44448	y=0,00470trat-1,5234

Tabela 5- Valores de firmeza e trabalho de corte correspondentes a textura das manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%).

	Nível de óleo de girassol				P	R <sup>2</sup>	CV	Eq. Regressão
	0%	2,3%	4,7%	7,0%				
<b>Firmeza 5°C</b>	1408,72	1197,58	924,42	868,65	<0,0001	0,80	10,03	y=-86,237trat+1695,0209
<b>Corte 5°C</b>	5471,25	4550,11	2482,32	1033,08	<0,0001	0,96	9,67	y=-657,580trat+8119,440
<b>Firmeza 23°C</b>	188,62	154,18	107,55	69,00	<0,0001	0,74	20,93	y=-17,368trat+254,824
<b>Corte 23°C</b>	1168,37	808,69	473,56	270,31	<0,0001	0,83	22,98	y=-131,508trat+1623,157

Tabela 6- Valores de pH, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) em mol/Kg e teor de colesterol (mg/100g) de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%).

NOG <sup>(1)</sup>	pH	TBARs	Colesterol
0%	6,67	3,8416E-09	194,14
2,3%	6,69	4,90238E-09	19,31
4,7%	6,63	4,60305E-09	176,95
7,0%	5,85	4,8223E-09	168,76
<b>P</b>	0,0012	NS*	0,0002
<b>R<sup>2</sup></b>	0,5666		0,6811
<b>CV</b>	3,58548		4,01084
<b>Eq.regressão</b>	y=-0,098trat+7,186		y=-3,9806trat+212,252

\*Não Significativo

<sup>(1)</sup>Nível de óleo de girassol

## 4.2 Manuscrito 2

### **Estabilidade oxidativa de manteigas de vacas jersey sob diferentes níveis dietéticos de óleo de girassol**

\*a ser submetido a revista

---

\*O manuscrito está formatado conforme as normas exigidas para publicação de artigos na Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)

**Estabilidade oxidativa de manteigas de vacas jersey sob diferentes níveis dietéticos de óleo de girassol**



**Resumo-** Avaliou-se a estabilidade oxidativa de manteigas de vacas jersey sob diferentes níveis de inclusão de óleo de girassol na dieta (0; 2,3; 4,7 e 7%), totalizando diferentes níveis de extrato etéreo (3,7; 6,0; 8,4 e 10,7%) na matéria seca. Oito animais foram utilizados em delineamento quadrado latino 4x4 duplo, com períodos experimentais de 15 dias. A estabilidade oxidativa foi determinada por análises de perfil de ácidos graxos, cor, pH e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico. As análises foram realizadas nos tempos zero (confeção das manteigas), 30, 60, 90 e 120 dias. As manteigas foram armazenadas protegidas da luz em refrigerador a 4°C para simular o armazenamento de manteigas comerciais. Para o perfil de ácidos graxos, não foi observada diferença significativa em relação aos diferentes períodos de análise, mas sim devido aos diferentes tratamentos, com maior participação de ácidos graxos insaturados, aumento da relação entre ácidos graxos insaturados e saturados (0,31 para o tratamento controle e 0,59 para 7%) e nos teores de CLA (6,9 mg/g para o controle para 31,45mg/g com 7% %) e de Vacênico (19,15mg/g para controle e 104,16mg/g para a inclusão de 7%). Em relação aos teores de TBARS foram observadas diferenças tanto para influência do tratamento (diferentes níveis de inclusão) como em relação ao período de análise (elevação dos teores com o aumento no período de análise e aumento no nível de inclusão). Os valores de pH apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ), com redução dos valores, tanto para aumento na inclusão de óleo quanto para aumento no período de análise. Em relação a análise da cor, diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) foram observadas apenas em relação aos diferentes tratamentos. Conclui-se que níveis elevados de inclusão de óleo de girassol pode ser útil para uma alteração em benefício a saúde dos consumidores no perfil de ácidos graxos (maior participação de ácidos graxos insaturados e menor de saturados). Esta maior participação parece estar relacionada com predisposição a oxidação e consequente redução na vida de prateleira, porém isto somente é observado a partir da extrapolação do tempo de prateleira convencional.

**Termos para indexação:** oxidação; poliinsaturados; qualidade; vida de prateleira.

### **Oxidative stability of butter jersey cows under different dietary levels of sunflower oil**

**Abstract-** We evaluated the oxidative stability of butter of Jersey cows under different sunflower oil inclusion levels in the diet (0, 2.3, 4.7 and 7%), totaling different levels of lipids (3.7; 6.0, 8.4 and 10.7%) on dry matter. Eight animals were used in double 4x4 Latin square design, with after 15 days. Oxidative stability was determined by profile analysis of fatty acids, color, pH, and thiobarbituric acid reactive species. The analyzes were performed at zero (making Butters), 30, 60, 90 and 120 days. Butters were stored at 4 ° C protected from light in the refrigerator to simulate the storage of commercial butters. To the profile of fatty acids, there was no significant difference in relation to different periods of analysis, but due to the different treatments, with greater participation of unsaturated fatty acids, increased relation between unsaturated and saturated fatty acids (0.31 to control treatment and 0.59 to 7%) and the content of CLA (6.9 mg / g for the control to 31,45mg / g% to 7%) and vaccenic (19,15mg / g for the control and 104, 16mg / g for the inclusion of 7%). Regarding TBARS values were observed for both differences influence of treatment (different inclusion levels) as compared to the analysis period (rising levels with increase in the period of analysis and increased the level of inclusion). The pH values were significantly different ( $p < 0.05$ ), with reduced values, both for increased inclusion of oil and to increase during the analysis period. Regarding the

analysis of color, significant differences ( $p < 0.05$ ) were observed only in relation to the different treatments. It is concluded that high levels of sunflower oil inclusion can be useful for a change to benefit the health of consumers in the fatty acid profile (higher share of unsaturated fatty acids and less saturated). This greater involvement seems to be related to susceptibility to oxidation and subsequent reduction in shelf life, but this is only observed from the extrapolation of the standard shelf life.

**Index terms:** oxidation; polyunsaturated; quality; shelf life.

## Introdução

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

A principal causa da deterioração de óleos e gorduras é conhecida como rancidez, que se caracteriza pelo desenvolvimento de produtos sensorialmente inaceitáveis, em função da ocorrência de odores e sabores estranhos (offflavours). Além disso, pode causar perda de cor, inativação de vitaminas, perda do valor nutritivo e conseqüentemente rejeição do produto (Knez et al., 2000). A rancidez pode ser classificada como rancidez hidrolítica e rancidez oxidativa. A rancidez hidrolítica resulta da hidrólise da molécula do triglicerídeo, com formação de glicerol e ácidos graxos livres, promovida por umidade e catalisada por lipases (enzimas presentes nas oleaginosas, nos alimentos ou de origem microbiana) (McClements e Decker, 2007). Estas enzimas, em condições de alta umidade e temperaturas relativamente altas, favorecem o rápido aumento no conteúdo de ácidos graxos livres (Zambiasi, 1999). Na rancidez oxidativa as alterações são iniciadas por espécies reativas de oxigênio, que levam à formação de vários produtos primários e secundários, que resultam na alteração dos principais parâmetros de qualidade, como cor, sabor, aroma e valor nutritivo (Nogala-Kalucka et al., 2005).

O fenômeno de oxidação dos lipídios depende de mecanismos reacionais diversos e extremamente complexos, os quais estão relacionados com o tipo de estrutura lipídica e o meio onde esta se encontra. O número e a natureza das insaturações presentes, o tipo de interface entre os lipídios e o oxigênio (fase lipídica contínua, dispersa ou emulsão), a exposição à luz e ao calor, a presença de pró-oxidantes ou de antioxidantes, são fatores

determinantes para a estabilidade oxidativa dos lipídios. A terminação da oxidação se dá quando ocorre uma redução na quantidade de lipídios ou ácidos graxos insaturados presentes. Os radicais livres presentes ligam-se uns aos outros, formando compostos estáveis (Ferreira; Matsubara, 1997).

Os principais fatores que afetam a estabilidade oxidativa da gordura láctea incluem a concentração de ácidos graxos insaturados, a disponibilidade de oxigênio, a temperatura de armazenamento, luz, a presença de íons metálicos, especialmente cobre e ferro e a ocorrência natural de  $\alpha$ -tocoferol. A gordura láctea tem se mostrado mais estável à oxidação do que alguns óleos vegetais, principalmente devido ao alto conteúdo de ácidos graxos saturados (Kaylegian; Lindsay, 1994).

Como comprovado, é possível alterar a composição da gordura do leite pela dieta dos animais, desta forma, muitas pesquisas foram e continuam sendo realizadas com este intuito, a fim de tornar os produtos lácteos mais adequados ao consumo humano (Gama et al., 2008; Lopes et al., 2009). Neste sentido, com foco na redução do risco de doenças cardiovasculares, tem-se buscado a diminuição dos teores dos ácidos graxos saturados de cadeia média e o aumento da concentração de ácidos graxos insaturados, como o ácido oleico (C18:1 *cis*-9), e o ácido vacênico (C18:1 *trans*-11), que é o precursor do CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) na síntese endógena da glândula mamária (Griinari et al., 2000). O fornecimento de fontes potenciais de ácidos graxos poliinsaturados na dieta de vacas leiteiras, como os óleos vegetais, é uma forma de tentar manipular o perfil de ácidos graxos do leite produzido. As gorduras têm potencial para melhorar a eficiência de utilização da energia, em razão dos ácidos graxos pré-formados de origem dietética serem incorporados diretamente na gordura do leite, sem a perda de calor associado à síntese de ácidos graxos, poupando energia para outras funções produtivas da glândula mamária (Nörnberg, 2003). O óleo de girassol é um dos recursos possíveis de ser utilizado com esta finalidade. O aumento das concentrações de CLA (C18:2 *cis*-9, *trans*-12) nos produtos lácteos pode ser obtido por meio do fornecimento deste óleo à dieta das vacas, devido a elevada concentração de ácido linoleico (C18:2 *cis*-9, *cis*-12) contido na semente deste vegetal. Porém, o aumento da concentração dos AGPI pode reduzir a estabilidade oxidativa dos produtos, o que reflete na maior susceptibilidade à oxidação e ao menor prazo de validade.

Teores de EE na dieta de vacas em produção de até 6 – 7% são os mais pertinentes como recomendação sem que se observem prejuízos no que se refere à produção e composição do leite. Considerando que as dietas comumente formuladas para vacas em lactação apresentam em torno de 3 a 4% de EE da dieta pode ser fornecido de forma

complementar através da inclusão de gorduras (NRC, 2001). Entretanto, experimento conduzido por Schafhäuser (2005), utilizando níveis crescentes de inclusão de óleo e farelo de arroz até o nível de 8% de EE na dieta de vacas leiteiras em lactação, não causou prejuízo para a saúde dos animais, bem como para a produção de leite e sua composição. Assim, o presente estudo visou extrapolar os limites considerados adequados até o momento na literatura e fornecer níveis crescentes e mais expressivos de óleo de girassol, com nível superior de 7% de inclusão, totalizando 10,7% de EE na MS.

Objetivou-se avaliar se manteigas produzidas com leite de vacas que receberam níveis crescentes e elevados de óleo de girassol apresentam diferencial quanto a sua composição em ácidos graxos, com a maior participação de ácidos graxos insaturados, mais interessantes do ponto de vista de saúde dos consumidores, e, se esta alteração acarreta processos oxidativos que possam comprometer a qualidade nutricional durante a vida de prateleira do produto.

### **Material e métodos**

O experimento de campo foi conduzido no sistema de Pecuária de Leite – SISPEL, localizado na Estação Experimental de Terras Baixas (EETB) da EMBRAPA Clima Temperado, situada no município de Capão do Leão – RS, enquanto as análises laboratoriais foram realizadas no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

Foram utilizadas oito vacas da raça Jersey, puras de origem, com duas ou mais lactações, datas de parto aproximadas e produção média de 20kg de leite e com peso vivo médio de 450kg. Os animais (unidades experimentais) foram alocados em baias individuais, de forma aleatória, sendo posteriormente sorteados os tratamentos. Foi empregado delineamento em quadrado latino (4X4) duplo, com 4 tratamentos e 4 repetições em cada quadrado, resultando em oito repetições por tratamento. Os tratamentos experimentais foram constituídos por diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0; 2,3; 4,7 e 7%) totalizando diferentes valores de extrato etéreo (3,7; 6,0; 8,4 e 10,7%) na matéria seca. Os períodos experimentais foram de 15 dias, com 10 dias de adaptação e 5 dias destinados a coleta de dados e de amostras.

Os animais foram mantidos em baias individuais, em galpão de alvenaria, com telhado de zinco, armação e piso de concreto frisado, camas de borracha sintética, sem paredes laterais, com 3,5m de pé-direito. Em cada baia havia um bebedouro com água à disposição

dos animais e cocho para fornecimento de alimentos volumosos e outro para o fornecimento do concentrado. A alimentação volumosa consistiu de silagem de milho e feno de alfafa picado, numa proporção aproximada de 50:50, misturados previamente ao fornecimento. A quantidade diária ofertada de volumosos foi ajustada, durante os períodos de adaptação, de forma que ocorressem sobras no cocho na ordem de 10%, como forma de estimular o consumo voluntário dos animais. O concentrado foi constituído de grão de milho, farelo de soja, farelo de trigo e sal mineral, formulado para suprir 100% das necessidades nutricionais estabelecidas para vacas leiteiras pelo NRC (2001), tendo como único fator de variação a substituição proporcional dos alimentos energéticos a base de carboidratos não fibrosos por óleo de girassol, de tal forma que as dietas fossem semelhantes em proteína e em fibra (fibra em detergente neutro).

As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia, com intervalos fixos, sendo as produções individuais de leite medidas em cada ordenha para efeito de controle experimental.

Diariamente, antes de iniciar a ordenha, eram realizados testes com a caneca de fundo preto para verificação da presença de mastite clínica, e, quinzenalmente era feito o teste de CMT (California Mastitis Test) para verificação de mastite subclínica.

As coletas de leite, para confecção das manteigas, foram realizadas em dois dias consecutivos, nas duas ordenhas (manhã e tarde).

Os leites coletados de forma individual por animal foram armazenados em recipientes adequados e pasteurizados. Foi utilizada a pasteurização lenta, na qual os leites foram aquecidos a 63°C-65°C por 30 minutos e após imediatamente resfriados a 4°C (quatro graus), permanecendo em repouso por 24 horas. Seguiu-se o mesmo procedimento com o leite da ordenha da tarde. Após as 24 horas de repouso foi realizado o desnatado manual dos leites pasteurizados de cada coleta e reunidas as natas da manhã e tarde. As natas correspondentes a cada amostra, ou cada animal, em cada dia de coleta foram batidas em batedor caseiro por tempo padronizado previamente. Posteriormente, retirou-se manualmente o soro, as manteigas foram modeladas em formas de alumínio, embaladas em papel alumínio, protegidas da luz e identificadas por animal e período de coleta. Foram acondicionadas em embalagens plásticas individuais e armazenadas a temperatura de 4°C (quatro graus), em refrigerador doméstico até realização das análises laboratoriais.

As análises visaram simular as condições em que os produtos encontram-se para os consumidores, assim, realizou-se análises aos dias zero, 30, 60, 90 e 120 a partir da data de confecção das manteigas. Nos períodos entre as datas de análises as amostras ficaram

armazenadas a 4°C ao abrigo da luz. Tal situação tem como objetivo mimetizar as condições encontradas seja nas residências ou no mercado consumidor.

As análises utilizadas para avaliar a estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira foram a determinação do teor de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), determinação do perfil de ácidos graxos, do pH e dos parâmetros de cor (L\*, a\*, b\*, C\* e H\*).

Para a determinação do perfil de ácidos graxos das manteigas produzidas foi primariamente realizada a extração de lipídeos totais segundo a metodologia de Bligh&Dyer (1959). Estes lipídios extraídos foram esterificados de acordo com a técnica descrita por Christie (1989) e analisados em cromatógrafo a gás da marca Agilent (modelo HP6890), equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar Supelco SP2560 (100m x 0,25mm x 0,2µm). A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras com o de padrões conhecidos (CLA: mistura constituída de ésteres do ácido octadecadienóico cis-9, trans-11 e cis-10, trans-12 Sigma; ácido graxo vacênico: éster metílico do ácido trans 18:1 Sigma; demais ácidos graxos mistura de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos - Supelco). Como padrão interno foi utilizado o ácido nonadecanóico. Os ácidos graxos foram quantificados em mg/g de amostra através de método validado por Simionato et al (2010).

Após a quantificação de todos os ácidos graxos pertencentes às diferentes famílias, saturados, insaturados e polinsaturados (PUFA) n-6 e n-3, procedeu-se à avaliação nutricional da gordura das manteigas, com base em índices nutricionais recomendados pelos organismos oficiais de saúde e descritos na literatura científica.

O índice PUFA n-6/n-3 foi referenciado por diversos organismos internacionais de Institute of Medicine of the National Academies of Sciences dos EUA (IMNAS) e foi descrito pela seguinte relação:

$$\text{PUFA n-6/n-3} = \frac{18:2 \text{ n-6} + 18:3 \text{ n-6} + 20:3 \text{ n-6} + 20:4 \text{ n-6} + 22:4 \text{ n-6}}{18:3 \text{ n-3} + 20:5 \text{ n-3} + 22:5 \text{ n-3} + 22:6 \text{ n-3}}$$

O índice AG-h/AG-H, ou seja, relação entre ácidos graxos considerados com efeito hipocolesterolêmico (h) e os considerados com efeito hipercolesterolêmicos (H) presentes na gordura do leite e de produtos lácteos (Dietschy, 1998 e Williams, 2000 citados por Santos - Silva *et al.*, 2002) eleva em conta os efeitos funcionais dos ácidos graxos, nomeadamente ao nível do metabolismo das lipoproteínas.

Este índice foi traduzido pela seguinte relação:

$$\text{AG-h/AG-H} = \frac{18:1 \text{ c9} + \text{PUFA n-6} + \text{PUFA n-3}}{12:0 + 14:0 + 16:0}$$

O índice de aterogenicidade foi proposto em 1991 por Ulbricht e Southgate. Este índice relaciona os diferentes efeitos dos AG na saúde humana, nomeadamente o efeito aterogênico.

Foi definido pela seguinte equação:

$$\text{IA} = [(12:0) + (4 \times 14:0) + (16:0)] / [(\text{PUFA n6} + \text{PUFA n3}) + \text{MUFA}]$$

O índice de trombogenicidade foi proposto por Ulbricht e Southgate (1991). Este índice considera o efeito trombogênico resultante da relação entre os diferentes efeitos na saúde humana dos vários AG. Assim, foi calculado a partir da equação:

$$\text{IT} = [(14:0) + (16:0) + (18:0)] / [(0,5 \times \text{MUFA}) + (0,5 \times \text{PUFA n6}) + (3 \times \text{PUFA n3}) + (\text{PUFA n3} \times \text{n6})]$$

A leitura de pH das amostras foi realizada através da emulsão de uma alíquota da amostra de manteiga (1g) em 10mL de água destilada (diluição 1:10 p/v). O eletrodo do aparelho medidor de pH (DIGIMED, Modelo DM-23 DC- phmetro, São Paulo, Brasil) era introduzido na emulsão para obtenção das leituras, em triplicata, após calibração do aparelho em pH 4,0 e 7,0 a temperatura de 25°C (IAL, 2008).

Para a determinação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi empregada metodologia conforme Botsoglou et al., (1994) com adaptações. Foram utilizados 2g de amostra, os quais eram transferidos para um tubo de centrífuga, onde eram adicionados 8mL de TCA 5% (ácido tricloroacético) e 5 mL de BHT 0,8% (butilhidroxi tolueno). O conteúdo do tubo era levado ao turrax por 30 segundos em velocidade alta e após foi centrifugado por 3 minutos a 3000g. Após a centrifugação a fase superior correspondente ao hexano foi retirada e a fase inferior filtrada em papel Whatman nº2. O filtrado foi então completado para 10mL com TCA 5%. A partir deste filtrado, foi retirada uma alíquota de 2,5 mL e levada a um tubo de ensaio com adição de 1,5mL de solução aquosa de TBA 0,8% (ácido tiobarbitúrico). Os tubos foram incubados por 45 minutos a 100°C e após foram resfriados em água corrente. Após o resfriamento, as amostras foram levadas para leitura em espectrofotômetro a 532 nm contra uma prova em branco. Foi preparada, paralelamente, uma curva padrão, através de diluições apropriadas de uma solução aquosa de TEP(1,1,3,3tetraetoxipropano  $1 \times 10^{-3} \text{M}$ ) a fim de se obter concentrações de  $1 \times 10^{-8}$  a  $7 \times 10^{-8}$

moles de malonaldeído em 1 mL de solução. Estas soluções foram tratadas com o reativo de TBA, conforme realizado com as amostras e efetuadas leituras também na faixa de 532nm. A determinação dos valores de TBARs foi feita por comparação dos valores das absorbâncias das amostras com a equação retirada da curva, através de fórmula matemática e foram quantificadas em mol de malonaldeído (MDA) por kg de amostra.

A cor das manteigas foi determinada diretamente na superfície das amostras em triplicata pelo sistema CIELAB, utilizando-se aparelho ChromaMelter CR-300 (Minolta, Osaka, Japão). O equipamento foi calibrado e ajustado previamente para o espaço de cor L\* (porcentagem de luminosidade) a\* (onde -a\* representa índice de direção ao verde e +a\* representa índice de direção ao vermelho) e b\* (onde -b\* representa índice de direção ao azul e +b\* direção ao amarelo). Os valores de C\* e H\* (croma métrica ou índice de saturação e ângulo de tonalidade métrica) foram determinados através de cálculos matemáticos. As análises de cor, como as demais análises, foram realizadas aos dias zero, 30, 60, 90 e 120 a partir da data de confecção das manteigas.

Para avaliação da estabilidade oxidativa das manteigas foi utilizado delineamento inteiramente ao acaso com medidas repetidas no tempo, constituído de quatro tratamentos, cinco tempos e quatro repetições, totalizando 80 unidades experimentais. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento Mixed e regressão polinomial em nível de 5% de significância, utilizando o software SAS versão 9.1.3.

## **Resultados e discussão**

A Tabela 1 apresenta os resultados encontrados para os valores de pH e de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) em mol de malonaldeído (MDA)/kg das manteigas analisadas.

Apesar das melhores condições nutricionais encontradas nas manteigas com os maiores teores de inclusão de óleo de girassol, a inclusão crescente de óleo de girassol na dieta propiciou redução linear ( $p < 0,05$ ) da estabilidade oxidativa das manteigas o que pode ser concluído a partir da redução nos valores de pH e aumento nos valores de TBARs, ambos significativos ( $p < 0,05$ ) no decorrer dos períodos de análise.

O aumento do conteúdo de ácidos graxos livres é responsável por quedas de pH, o que foi observado no presente estudo. O pH apresentou valores reduzidos, estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) para os tratamentos com maiores teores de óleo de girassol pelo maior



teor de ácidos graxos insaturados presentes e conseqüentemente maior suscetibilidade a oxidação. Quanto aos diferentes períodos de análise observou-se também diferença significativa ( $p < 0,05$ ), com valores reduzidos de pH pela formação de ácidos graxos livres provenientes da rancidez hidrolítica.

Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com o que ocorreu em relatos feito por Gama et al. (2008) e Ribeiro et al. (2011b), que utilizaram condições experimentais com dietas à base de capim-elefante suplementadas com 0; 1,5; 3,0 e 4,5% da matéria seca de óleo de soja e de óleo de girassol, respectivamente, no entanto, estes autores mensuraram a estabilidade oxidativa em horas e encontraram valores como 2,69; 2,28; 1,74; 1,34 h (Gama et al., 2008); e de 6,89; 6,26; 5,70; 5,51 h (Ribeiro et al., 2011b). Os autores também atribuíram estas respostas ao aumento dos teores de ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados com a adição crescente de óleo vegetal na dieta.

Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) tanto para efeito da inclusão de óleo de girassol na dieta como efeito do tempo para os teores de pH e de TBARs, sendo uma relação inversa, enquanto houve redução dos valores de pH com o aumento do nível de inclusão de óleo houve aumento nos valores de TBARs.

A determinação de TBARs é um dos testes mais usados para avaliar a oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos. A intensidade da oxidação lipídica é representada por um valor de TBA que reage com uma molécula de malondialdeído (MDA), um dialdeído produzido pela degradação oxidativa de ácidos graxos com três ou mais duplas ligações. Isto significa que a formação de MDA durante a oxidação lipídica é dependente da composição inicial em ácidos graxos (McClements; Decker, 2007). Tal descrição justifica o fato de as maiores elevações e os maiores teores de TBARs aparecerem nos maiores níveis de inclusão de óleo a medida que aumentam os períodos de análise.

Os hidroperóxidos não causam alterações no sabor e odor dos alimentos, mas seus produtos de degradação possuem grande capacidade de alteração de aroma e sabor (Gordon, 2001). Os produtos resultantes da decomposição dos hidroperóxidos dependem do tipo de ácido graxo e da localização do hidroperóxido no ácido graxo. Podem ser compostos de cadeia curta, voláteis e não-voláteis, que contribuem acentuadamente para as alterações sensoriais do alimento. Esses produtos de decomposição, principalmente os de cadeia curta, possuem limiares de percepção muito baixos, podendo ser detectados em baixíssimas concentrações (McClements; Decker, 2007). A terminação da oxidação se dá quando ocorre uma redução na quantidade de lipídios ou ácidos graxos insaturados presentes. Os radicais livres presentes ligam-se uns aos outros, formando compostos estáveis (Ferreira; Matsubara,

1997). Assim se observa estabilidade nos valores de TBARs no decorrer dos períodos de análise.

As Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 apresentam os valores encontrados para o perfil de ácidos graxos, em mg/g de amostra nos diferentes períodos de análise. As equações de regressão geradas para cada ácido graxo encontram-se na Tabela 7.

Gordon (2001a); Wanasundara (2008) afirmam que as alterações que ocorrem na composição dos ácidos graxos insaturados de um óleo ou gordura são uma forma de monitorar a deterioração oxidativa. Estes métodos requerem a extração total dos lipídios da amostra e a subsequente conversão destes compostos em derivados que possam ser analisados por cromatografia gasosa. Com estes resultados, é possível identificar a classe de lipídios que está fortemente envolvida no processo oxidativo. Por outro lado, as mudanças na composição dos ácidos graxos não devem ser avaliadas em amostras onde predominam ácidos graxos saturados, já que estas mudanças ocorrem em ácidos graxos insaturados durante a oxidação.

Apesar do perfil de ácidos graxos do presente estudo, principalmente em relação as manteigas produzidas para o nível de 7% de inclusão, estar caracterizada por aumento significativo ( $p < 5\%$ ) nos teores de ácidos graxos insaturados, não foram observadas diferenças significativas nos teores destes ácidos graxos insaturados no decorrer do período de análise, logo houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) apenas para efeito de tratamento.

A redução da estabilidade oxidativa ocorreu devido ao aumento da concentração dos ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos polinsaturados, observados nas manteigas provenientes dos maiores níveis de inclusão de óleo, já que a elevação da concentração destes torna os alimentos mais susceptíveis à oxidação (Choe e Min, 2006). Os teores crescentes de TBARs no decorrer das análises indica o menor tempo de validade (vida de prateleira) da manteiga, o que pode ser indesejável para a indústria. Porém, esta análise não pode ser feita isoladamente, pois devem ser considerados os benefícios do aumento das concentrações dos ácidos vacênico e CLA *cis-9, trans-11*, concomitante a redução das concentrações dos ácidos láurico, mirístico e palmítico (Tabela 2 e Tabela 3).

O número de ligações duplas nos ácidos graxos influencia a estabilidade oxidativa e assim a vida de prateleira e a aceitabilidade pelo consumidor (Hawke & Taylor, 1995; Kaylegian & Lindsay, 1995). Ácidos graxos insaturados são oxidados para formar hidroperóxidos, os quais são muito instáveis. Produtos secundários de oxidação, incluindo aldeídos saturados e insaturados, cetonas, hidrocarboneto e álcoois podem ser perceptíveis aos consumidores mesmo em baixas concentrações (Fox & Mc Sweeney, 1998). Assim a elevação nos teores de TBARs e a redução nos teores de pH observados na Tabela 1 que são

indicativos da ocorrência de oxidação provavelmente não tem relação com o perfil de ácidos graxos, pois este não teve alteração significativa ( $P > 0,05$ ) no decorrer dos períodos de análise, ou seja, os indícios de oxidação detectados provavelmente são decorrentes de outros compostos além dos ácidos graxos.

Outros produtos resultantes da oxidação lipídica, como 2-alcenais e 2,4-alcadienais, também reagem com TBA, entretanto o exato mecanismo desta reação ainda não está completamente esclarecido (Shahidi; Wanasundara, 2008). Tal afirmação pode explicar em parte a razão pela qual no presente estudo foram observadas alterações nos teores de TBARs no decorrer do período de análise sem, no entanto, ocorrer diferença significativa nos teores de ácidos graxos.

As Tabelas 8 e 9 apresentam os valores obtidos para os parâmetros de cor das manteigas produzidas a partir dos diferentes níveis de inclusão de óleo de girassol e com diferentes tempos de armazenamento.

Os parâmetros de cor acusaram diferenças ( $P < 0,05$ ) com relação aos níveis de óleo de girassol na dieta das vacas, porém não diferiram ( $P > 0,05$ ) com relação ao tempo de armazenamento.

Os valores observados para o parâmetro  $b^*$ , que sob sinal + indica tendência ao amarelo, foram maiores que os encontrados por Gonzalez (2003), 27,73; 18,75 e 19,44, respectivamente para manteigas controle, rica em ácido oleico e ricas em ácido linoleico. Os maiores valores encontrados para o parâmetro  $+b^*$  provavelmente tenha relação com a raça dos animais. No presente estudo, empregou-se animais da raça Jersey que possuem menor taxa de conversão de carotenos em vitamina A, portanto tonalidades mais intensas de amarelo em seus produtos são esperados quando comprados com outras raças, como a Holandês.

As condições de processamento e confecção das manteigas foram controladas, tanto quanto possível, mas pode ter contribuído para variações de cor. Além disso, a diferença de cor entre as manteigas com maiores teores de ácidos graxos insaturados pode ser devido a fatores como a cor do óleo suplementado na dieta, fonte de ácidos graxos alimentares e reações de oxidação. Noakes et al. (1996) observaram ligeiras diferenças de cor em produtos lácteos (leite, manteiga, queijo e sorvete) com um maior teor de ácidos graxos insaturados. Kaya (2000) encontrou mudanças de cor no *butter oil* relacionadas a reações de oxidação. No presente estudo, não houve aumento nos teores de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, (TBARs) demonstrado na Tabela 6, não indicando assim início de processos oxidativos e não sendo possível atribuir as mudanças de cor a reações de oxidação. Kaya (2000) observou ainda que valores de peróxido (produtos primários de oxidação) superior a 10 meq/kg ocorreu

mudanças de cor de amarelo para amarelo-claro em *butteroil*, esta mudança de cor foi atribuída a oxidação de cromóforos.

As diferenças de cor entre as manteigas com maiores teores de ácidos graxos insaturados, ou seja, as provenientes dos maiores níveis de óleo de girassol pode ser devido a fatores como a cor dos óleos suplementados na dieta, fonte de ácidos graxos alimentares (pigmentos presentes em outros alimentos pertencentes a dieta) e reações de oxidação.

### Conclusões

Níveis elevados de inclusão de óleo de girassol na dieta de vacas lactantes levam a um maior teor de ácidos graxos insaturados nas manteigas produzidas. Tais ácidos graxos, principalmente poliinsaturados possuem propriedades benéficas a saúde dos consumidores. O perfil modificado torna os produtos mais suscetíveis a oxidação, com redução nos valores de pH e elevação dos teores de TBARs, sem afetar os parâmetros de cor dos produtos, no entanto, este efeito negativo somente é observado a partir da extrapolação do tempo de prateleira comercial, normalmente convencionado a 90 dias. Assim, o consumo dentro do prazo convencionado, tornaria possível o aproveitamento das características benéficas alcançadas sem prejuízo da qualidade do produto.

### Referências

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

CHRISTIE, WW. Gas chromatography and lipids. Ayr: The Oily Press, Scotland., p. 162, 1989.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação de Medicina do Brasil**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

GAMA, M.A.S.; LOPES, F.C.F.; RIGUEIRA, J.C.S. et al. Perfil de ácidos grasos y estabilidad oxidativa de mantecas elaboradas con leche de vacas que reciben dietas con aceite de soja. **Tecnología Láctea Latinoamericana**, 54: 56-57, 2008.

GEAY, Y., BAUCHART, D., HOCQUETTE, J.F. e CULIOLI, J. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. **Reproduction Nutrition Development**, v. 41, p. 1-26, 2001.

GONZALES, S.; DUNCAN, S.E.; O'KEEFE, S.F. et al. Oxidation and textural characteristics of butter and ice cream with modified fatty acid profiles. **Journal Dairy Science**, v.86, n.1, p.70-77, 2003.

GORDON, M. H. The development of oxidative rancidity in foods. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food: practical application**. USA: CRC Press, p. 7-21, 2001.

LOPES, F.C.F.; RIBEIRO, C.G.S.; RIBEIRO, M.T. et al. Milk fatty acid profile from dairy cows fed increasing levels of soybean oil in diets based on tropical forage. In: XITH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY. 11. 2009. **Clermont-Ferrant. Proceedings...** Wageningen: Wageningen Academic Publishers, p.588-589, 2009.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPSRT-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, p. 227-235, 2005.

NÖRNBERG, J. L. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey na fase inicial de lactação. 2003. 199f. **Tese** (Doutor em Zootecnia)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2003.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7ed. Washington, DC: National Academy Press, p.381, 2001.

SCHAFHÄUSER, J. JR. Níveis crescentes de gordura de arroz para vacas leiteiras de alta produção no início da lactação. 2005. 140f. **Tese** (Doutor em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2005.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Nutritional and pharmacological effects of food phenolics. In: **Phenolics in food and nutraceuticals**. USA: CRC Press, p. 331-402, 2004.

SIMIONATO, J. I.; GARCIA, J. C.; SANTOS, G. T.; OLIVEIRA, C. C.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E. Validation of the determination of fatty acids in milk by gas chromatography. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 21, nº 3, p. 520-524, 2010.

Tabela 1- Valores de pH e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) em mol MDA/kg de manteiga produzida com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira.

	<b>Dias</b>	<b>pH</b>	<b>TBARs</b>
<b>0%</b>	0	6,67	3,1263E-09
	30	6,57	3,2535E-09
	60	6,35	4,1018E-09
	90	6,19	4,8848E-09
	120	6,08	7,225E-09
<b>2,3%</b>	0	6,67	3,833E-09
	30	6,63	4,099E-09
	60	6,24	4,4525E-09
	90	6,12	7,239E-09
	120	6,05	8,885E-09
<b>4,7%</b>	0	6,63	3,6268E-09
	30	6,54	3,7738E-09
	60	6,29	4,7718E-09
	90	5,99	6,2398E-09
	120	5,87	9,6118E-09
<b>7,0%</b>	0	5,85	4,822E-09
	30	5,56	5,8743E-09
	60	5,24	7,852E-09
	90	5,06	8,5E-09
	120	4,86	9,8567E-09
<b>R<sup>2</sup>-tratamento</b>		0,4264	0,1503
<b>CV- tratamento</b>		6,24938	37,48541
<b>p- tratamento</b>		<0,0001	0,0006
<b>Eq. regressão</b>		y=-0,1287trat+7,0256	y=0,35013trat+3,25826
<b>R<sup>2</sup>-tempo</b>		0,3049	0,6024
<b>CV- tempo</b>		6,8793	25,6423
<b>p- tempo</b>		<0,0001	<0,0001
<b>Eq. regressão</b>		y=-0,00649tempo+6,518	y=0,04180tempo+3,18785

Tabela 2- Perfil de ácidos graxos quantificados em mg/g de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%)

armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira.

	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C11:0	C12:0	C13:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	
<b>0%</b>	<b>0</b>	30,99	17,02	11,03	25,92	3,42	29,29	1,59	100,38	6,18	9,25	287,12
	<b>30</b>	30,91	17,19	11,39	26,24	3,23	30,45	1,47	99,13	6,10	9,15	283,03
	<b>60</b>	30,99	16,71	11,11	25,27	3,26	30,25	1,45	99,22	6,22	9,05	284,97
	<b>90</b>	31,05	16,50	10,62	27,04	3,15	30,00	1,40	99,69	6,23	9,55	276,41
	<b>120</b>	31,18	16,64	11,06	26,53	3,16	30,13	1,42	99,31	6,11	8,76	275,33
	<b>0</b>	30,76	17,02	10,01	23,89	2,60	28,60	1,27	95,30	5,96	8,15	272,65
	<b>30</b>	30,34	16,86	10,15	24,12	2,72	27,62	1,14	95,54	5,47	8,05	268,81
	<b>60</b>	30,03	16,91	10,25	24,04	2,68	27,53	1,11	94,86	5,79	8,17	269,92
	<b>90</b>	30,30	16,89	10,30	23,72	2,52	27,47	1,09	95,18	5,48	7,86	268,83
<b>2,3%</b>	<b>120</b>	30,29	17,05	10,46	23,41	2,72	27,39	1,13	95,20	5,84	7,69	267,85
	<b>0</b>	29,25	15,81	9,00	20,39	1,40	24,98	1,00	91,72	5,08	6,37	255,50
	<b>30</b>	29,05	15,50	9,28	20,76	1,40	24,74	0,98	91,68	4,87	6,98	253,09
	<b>60</b>	28,98	15,69	9,60	21,11	1,37	24,70	1,00	91,58	4,65	7,21	253,83
	<b>90</b>	29,01	15,42	9,24	21,21	1,36	24,64	1,00	91,60	5,03	7,12	256,00
<b>4,7%</b>	<b>120</b>	29,00	15,51	9,14	21,14	1,30	24,70	1,00	91,42	5,15	6,66	254,67
	<b>0</b>	28,30	15,46	8,15	17,12	1,04	22,83	0,75	88,34	3,83	5,04	249,47
	<b>30</b>	28,22	15,04	8,05	16,52	1,07	21,56	0,76	88,17	3,73	5,21	243,92
	<b>60</b>	28,09	14,60	8,27	16,38	0,97	21,50	0,77	87,42	3,43	5,31	240,86
	<b>90</b>	28,10	14,63	8,09	16,54	1,08	21,74	0,83	87,51	3,82	5,32	244,75
<b>7,0%</b>	<b>120</b>	28,05	14,30	8,15	16,31	1,10	21,32	0,89	87,14	3,35	5,77	243,82
R <sup>2</sup>		0,84	0,65	0,89	0,93	0,90	0,94	0,82	0,97	0,83	0,91	0,79
CV		1,57	3,60	3,71	4,36	13,68	2,91	9,92	0,82	7,65	5,72	2,72
P		<0,001	<0,001	<0,001	<0,0001	<0,001	<0,0001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Tabela 3- Perfil de ácidos graxos quantificados em mg/g de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira.

	C16:1 n7	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1 n9t	Vacénico	C18:1 n9c	C18:2 n6t	C18:2 n6c	
<b>0%</b>	<b>0</b>	7,56	5,88	0,91	112,70	6,06	19,15	125,11	0,79	16,13
	<b>30</b>	8,38	5,77	0,99	107,89	6,20	26,08	123,34	0,80	15,67
	<b>60</b>	8,48	5,86	1,06	107,24	6,17	26,91	124,74	0,82	15,31
	<b>90</b>	7,61	5,83	1,08	108,04	6,13	27,50	125,40	0,79	15,85
	<b>120</b>	8,25	5,81	1,06	107,97	6,23	26,91	124,38	0,78	16,28

	<b>0</b>	8,36	5,98	0,93	114,35	8,12	46,92	131,65	0,96	17,60
	<b>30</b>	8,61	5,02	1,03	116,91	8,06	47,03	127,34	0,99	18,24
	<b>60</b>	8,87	5,08	1,02	116,30	8,09	47,20	134,95	1,00	18,37
	<b>90</b>	8,85	5,14	0,96	116,39	8,14	46,42	131,03	0,99	18,15
<b>2,3%</b>	<b>120</b>	9,11	5,09	1,02	116,81	8,08	47,57	131,20	1,02	18,07
	<b>0</b>	10,03	4,37	0,94	124,82	10,18	79,06	140,49	1,08	20,13
	<b>30</b>	10,06	4,50	1,06	125,27	9,92	79,11	138,01	1,10	19,34
	<b>60</b>	10,00	4,35	1,07	125,03	9,77	78,55	138,93	1,09	19,79
	<b>90</b>	10,07	4,47	1,01	125,88	9,85	79,20	135,70	1,10	19,84
<b>4,7%</b>	<b>120</b>	9,93	4,37	1,01	124,44	9,90	78,81	137,19	1,07	19,77
	<b>0</b>	11,12	4,19	1,14	134,14	10,84	104,16	144,05	1,21	22,92
	<b>30</b>	12,01	3,95	1,10	134,81	10,79	111,34	137,33	1,15	22,29
	<b>60</b>	11,41	3,90	1,07	133,76	10,98	114,15	139,82	1,19	21,63
	<b>90</b>	11,81	3,52	1,15	134,28	11,21	115,04	142,01	1,01	21,42
<b>7,0%</b>	<b>120</b>	11,93	3,41	1,18	135,38	11,61	110,81	138,36	1,14	23,19
	<b>R<sup>2</sup></b>	0,86	0,80	0,12	0,95	0,96	0,98	0,72	0,74	0,81
	<b>C.V</b>	5,46	7,82	9,46	1,72	4,53	7,75	2,85	7,61	5,91
	<b>P</b>	<0,0001	<0,0001	0,0025	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Tabela 4- Perfil de ácidos graxos quantificados em mg/g de teigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira.

		<b>C20:0</b>	<b>C18:3n6</b>	<b>C20:1</b>	<b>C18:3 n3</b>	<b>CLA 1</b>	<b>CLA 2</b>	<b>C21:0</b>	<b>C20:2</b>	<b>C22:0</b>
	<b>0</b>	1,27	0,82	0,17	3,68	6,54	0,35	0,65	0,19	0,63
	<b>30</b>	1,36	0,83	0,19	3,58	6,45	0,35	0,64	0,21	0,61
	<b>60</b>	1,29	0,84	0,20	3,64	6,26	0,35	0,62	0,22	0,61
	<b>90</b>	1,37	0,85	0,22	3,64	6,32	0,33	0,62	0,24	0,60
<b>0%</b>	<b>120</b>	1,32	0,84	0,20	3,61	6,16	0,34	0,61	0,22	0,65
<b>2,3%</b>	<b>0</b>	1,26	0,92	0,41	3,51	8,21	0,32	0,64	0,33	0,67



	<b>30</b>	1,21	0,95	0,41	3,50	8,58	0,32	0,63	0,33	0,68
	<b>60</b>	1,30	0,97	0,37	3,46	8,86	0,30	0,63	0,34	0,70
	<b>90</b>	1,25	0,97	0,42	3,50	8,52	0,30	0,61	0,33	0,67
	<b>120</b>	1,24	0,96	0,42	3,53	8,94	0,33	0,60	0,34	0,67
	<b>0</b>	1,23	1,02	0,51	3,11	14,78	0,33	0,55	0,45	0,68
	<b>30</b>	1,18	1,05	0,52	3,07	15,59	0,35	0,55	0,47	0,68
	<b>60</b>	1,26	1,09	0,54	3,11	15,66	0,34	0,53	0,45	0,66
	<b>90</b>	1,22	1,06	0,55	3,04	16,74	0,25	0,51	0,45	0,68
<b>4,7%</b>	<b>120</b>	1,23	1,08	0,47	3,02	16,28	0,29	0,54	0,47	0,69
	<b>0</b>	1,22	1,15	0,64	3,30	31,00	0,45	0,86	0,54	0,82
	<b>30</b>	1,16	1,18	0,62	3,14	30,54	0,43	0,87	0,54	0,83
	<b>60</b>	1,11	1,23	0,61	3,18	29,18	0,44	0,86	0,54	0,82
	<b>90</b>	1,14	1,20	0,62	2,96	31,74	0,43	0,87	0,54	0,84
<b>7,0%</b>	<b>120</b>	1,13	1,17	0,63	2,90	30,10	0,43	0,88	0,54	0,80
	<b>R<sup>2</sup></b>	0,54	0,81	0,90	0,57	0,86	0,18	0,23	0,95	0,62
	<b>CV</b>	4,30	6,28	12,28	6,06	23,78	16,24	16,59	7,27	7,15
	<b>P</b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Tabela 5- Perfil de ácidos graxos quantificados em mg/g de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira

		<b>C20:3 n6</b>	<b>C20:3n3</b>	<b>C20:4n6</b>	<b>C22:2</b>	<b>C24:0</b>	<b>C20:5 n3</b>	<b>C22:6 n3</b>
	<b>0</b>	0,62	0,64	0,69	0,09	0,37	0,05	1,30
	<b>30</b>	0,62	0,64	0,65	0,11	0,42	0,05	0,63
	<b>60</b>	0,64	0,62	0,64	0,09	0,37	0,05	0,86
<b>0%</b>	<b>90</b>	0,62	0,62	0,63	0,08	0,35	0,05	1,16

	<b>120</b>	0,63	0,62	0,71	0,07	0,40	0,04	0,92
	<b>0</b>	0,62	0,60	0,71	0,09	0,41	0,05	1,85
	<b>30</b>	0,64	0,61	0,69	0,10	0,38	0,07	1,16
	<b>60</b>	0,63	0,61	0,71	0,10	0,43	0,05	0,90
	<b>90</b>	0,63	0,62	0,70	0,10	0,37	0,07	0,88
<b>2,3%</b>	<b>120</b>	0,65	0,62	0,72	0,10	0,37	0,09	1,12
	<b>0</b>	0,60	0,59	0,70	0,08	0,51	0,11	1,04
	<b>30</b>	0,62	0,61	0,67	0,09	0,53	0,10	1,24
	<b>60</b>	0,65	0,60	0,68	0,10	0,49	0,07	1,23
	<b>90</b>	0,62	0,58	0,71	0,11	0,49	0,07	0,90
<b>4,7%</b>	<b>120</b>	0,62	0,57	0,72	0,09	0,48	0,09	1,16
	<b>0</b>	0,75	0,73	0,77	0,12	0,60	0,09	1,71
	<b>30</b>	0,71	0,72	0,77	0,11	0,63	0,51	1,71
	<b>60</b>	0,70	0,74	0,78	0,12	0,62	0,58	1,67
	<b>90</b>	0,73	0,78	0,81	0,11	0,49	0,86	1,67
<b>7,0%</b>	<b>120</b>	0,71	0,74	0,78	0,09	0,59	0,90	1,68
<b>R<sup>2</sup></b>		0,34	0,19	0,29	0,07	0,77	0,23	0,21
<b>C.V</b>		5,99	9,64	8,11	27,49	10,15	176,85	34,30
<b>P</b>		<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0242	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Tabela 6- Índices calculados a partir do perfil de ácidos graxos de amostra de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0- controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira.

	Sat. *	Ins. *	Ins./Sa	CLA total	CLA/ Vac	h/H **	n6/n3**	Vac./EI ***	IA ****	I.T ****
<b>0</b>	637,49	197,00	0,31	6,90	0,36	0,38	3,41	3,17	3,65	2,58
<b>30</b>	628,86	201,85	0,32	6,80	0,26	0,37	3,92	4,22	3,52	2,81
<b>60</b>	628,26	204,08	0,33	6,61	0,25	0,37	3,61	4,36	3,49	2,73
<b>90</b>	622,22	205,34	0,33	6,65	0,24	0,38	3,48	4,49	3,44	2,56
<b>0%</b>	<b>120</b>	620,25	204,35	0,33	6,50	0,39	3,80	4,32	3,44	2,62
<b>2,3%</b>	<b>0</b>	613,55	238,11	0,39	8,53	0,42	3,53	5,79	2,87	2,20

	<b>30</b>	610,16	234,09	0,38	8,89	0,19	0,42	4,11	5,84	2,90	2,36
	<b>60</b>	609,92	242,56	0,40	9,16	0,20	0,44	4,46	5,83	2,79	2,40
	<b>90</b>	608,58	237,03	0,39	8,82	0,19	0,42	4,35	5,71	2,86	2,42
	<b>120</b>	607,95	239,69	0,39	9,27	0,20	0,43	4,09	5,88	2,82	2,33
	<b>0</b>	587,55	290,31	0,49	15,11	0,19	0,49	5,04	7,78	2,23	2,26
	<b>30</b>	586,15	287,84	0,49	15,94	0,20	0,49	4,65	8,00	2,24	2,24
	<b>60</b>	587,39	288,39	0,49	16,00	0,21	0,50	4,77	8,06	2,24	2,21
	<b>90</b>	589,84	286,86	0,49	16,99	0,22	0,49	5,28	8,05	2,26	2,37
<b>4,7%</b>	<b>120</b>	586,27	287,67	0,49	16,57	0,20	0,49	4,92	7,96	2,24	2,26
	<b>0</b>	578,34	340,52	0,59	31,45	0,30	0,58	4,74	9,64	1,84	1,86
	<b>30</b>	570,78	340,72	0,59	30,98	0,28	0,57	4,48	10,34	1,81	1,84
	<b>60</b>	565,24	343,46	0,61	29,63	0,26	0,58	4,33	10,44	1,78	1,83
	<b>90</b>	569,86	349,93	0,62	32,17	0,28	0,58	4,18	10,27	1,76	1,84
<b>7,0%</b>	<b>120</b>	569,04	342,26	0,60	30,53	0,28	0,57	4,47	9,53	1,80	1,76
<b>R<sup>2</sup></b>		0,88	0,98	0,97	0,86	0,63	0,94	0,32	0,94	0,98	0,67
<b>CV</b>		1,31	3,04	4,15	23,47	13,04	3,91	13,25	8,04	8,22	8,37
<b>P</b>		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

\* Teor total de ácidos graxos Saturados e Insaturados

\*\* Relação entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos e relação entre ácidos graxos polinsaturados n6 e n3

\*\*\* Relação entre o ácido graxo vacênico e o ácido graxo elaídico

\*\*\*\* Índice de Aterogenicidade (I.A) e Índice de Trombogenicidade

Tabela 7- Equações de regressão demonstrando diferenças significativas para tratamento apenas no perfil de ácidos graxos de amostras de manteigas produzidas com leites de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 para avaliação da estabilidade oxidativa frente a vida de prateleira.

#### Equações de regressão

<b>C4</b>	$y = -0,42371\text{trat} + 32,69403$	<b>CLA1</b>	$y = 3,28285\text{trat} - 8,54755$
<b>C6</b>	$y = -0,31174\text{trat} + 18,28958$	<b>CLA2</b>	$y = 0,01013\text{trat} + 0,27493$
<b>C8</b>	$y = -0,411114\text{trat} + 12,63038$	<b>C21</b>	$y = 0,02307\text{trat} + 0,48846$
<b>C10</b>	$y = -1,33971\text{trat} + 31,56571$	<b>C20/2</b>	$y = 0,04771\text{trat} + 0,04316$
<b>C11</b>	$y = -0,34293\text{trat} + 4,53226$	<b>C22</b>	$y = 0,02474\text{trat} + 0,51789$
<b>C12</b>	$y = -1,17964\text{trat} + 34,56958$	<b>C20/3n6</b>	$y = 0,01086\text{trat} + 0,56943$

<b>C13</b>	y=-0,09262trat+1,76728	<b>C20/3n3</b>	y=0,01171trat+0,55423
<b>C14</b>	y=-1,67623trat+105,5757	<b>C20/4n6</b>	y=0,01425trat+0,60730
<b>C14/1</b>	y=-0,34882trat+7,64271	<b>C22/2</b>	y=0,00280trat+0,07754
<b>C15</b>	y=-0,53396trat+11,18432	<b>C24</b>	y=0,03380trat+0,22627
<b>C16</b>	y=-5,40623trat+301,38083	<b>C20/5n3</b>	y=0,06415trat-0,27521
<b>C16/1n7</b>	y=0,50731trat+5,95415	<b>C22/6n3</b>	y=0,08322trat+0,62993
<b>C17</b>	y=-0,29845trat+6,96961	<b>AGS total</b>	y=-8,29010trat+658,48696
<b>C17/1</b>	y=0,01398trat+0,93536	<b>AGI total</b>	y=20,05753trat+123,4310
<b>C18</b>	y=3,66742trat+94,69472	<b>PUFAs</b>	y=16,7373trat-11,3711
<b>C18/1n9t</b>	y=0,72032trat+3,64932	<b>MUFAs</b>	y=3,3202trat+134,8021
<b>Vacenico</b>	y=12,30655trat-23,12508	<b>Ins./Sat.</b>	y=0,03994trat+0,1630
<b>C18/1n9c</b>	y=2,36657trat+116,62224	<b>PUFA/Sat</b>	y=0,03043trat-0,03376
<b>C18/2n6t</b>	y=0,04956trat+0,64902	<b>CLA total</b>	y=3,292trat-8,272
<b>C18/2n6c</b>	y=0,89381trat+12,55606	<b>CLA/Vac.</b>	y=0,00728trat <sup>2</sup> -0,1029trat+0,5505
<b>C20</b>	y=-0,02276trat+1,40034	<b>h/H</b>	y=0,02783trat+0,26647
<b>C18/3n6</b>	y=0,04973trat+0,65030	<b>n6/n3</b>	y=0,15109trat+3,21732
<b>C20/1</b>	y=0,06084trat-0,00162	<b>Vac./El.</b>	y=0,85208trat+0,8456
<b>C18/3n3</b>	y=-0,09003trat+3,96484	<b>IA</b>	y=-0,24764trat+4,37594
		<b>IT</b>	y=-0,10727trat+3,05046

Tabela 8- Parâmetros de cor instrumental ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%), armazenadas a 4°C por 120 dias, com análises nos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias.

	<b>Dias</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>0%</b>	0	92,47	-2,10	33,94
	30	93,96	-2,27	33,08
	60	93,24	-2,22	33,26
	90	94,09	-2,45	34,12
	120	94,33	-2,17	33,12
<b>2,3%</b>	0	91,32	-2,65	31,56
	30	91,32	-2,58	32,59
	60	90,92	-2,63	31,86
	90	90,75	-2,71	31,61

	120	91,10	-2,71	31,79
<b>4,7%</b>	0	91,59	-2,68	31,56
	30	91,69	-2,65	32,02
	60	92,19	-2,69	32,85
	90	92,16	-2,75	32,87
	120	92,29	-2,74	32,47
<b>7,0%</b>	0	93,71	-3,57	35,81
	30	94,99	-3,48	35,60
	60	94,59	-3,15	36,18
	90	94,79	-3,53	34,97
	120	94,14	-3,32	34,71
<b>R<sup>2</sup></b>		0,5576	0,6553	0,1196
<b>CV</b>		1,24	10,06	4,79
<b>P</b>		<0,0001	<0,0001	0,0024
<b>Eq. regressão</b>		$y=0,2340\text{trat}^2+3,216\text{trat}+102,227$	$y=-0,1467\text{trat}-1,689$	$y=0,228\text{trat}+31,5930$

Tabela 9- Parâmetros de cor instrumental (C\*, H\*) de manteigas produzidas com leite de vacas Jersey sob diferentes níveis de óleo de girassol na dieta (0-controle; 2,3; 4,7 e 7,0%) armazenadas a 4°C por 120 dias, com análise aos dias zero, 30, 60, 90 e 120 dias.

		<b>C*</b>	<b>H°</b>
	0	34,00	-1,50
	30	33,16	-1,50
	60	33,33	-1,50
	90	34,21	-1,50
<b>0%</b>	120	33,19	-1,50
	0	31,67	-1,49
	30	32,69	-1,49
	60	31,97	-1,49
	90	31,73	-1,48

	120	31,91	-1,48
	0	32,21	-1,49
	30	32,13	-1,48
	60	32,96	-1,49
	90	32,98	-1,49
<b>4,7%</b>	120	32,59	-1,48
	0	35,98	-1,47
	30	35,78	-1,47
	60	36,32	-1,48
	90	35,14	-1,47
<b>7,0%</b>	120	34,86	-1,47
<b>R<sup>2</sup></b>		0,1294	0,6047
<b>C.V</b>		4,79404	0,52487
<b>P</b>		0,0015	<0,001
<b>Eq. Regressão</b>		y=0,24003trat+31,628	y=0,00377trat-1,5158

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adição de níveis crescentes de óleo de girassol na dieta de vacas da raça Jersey alterou de forma positiva a composição dos ácidos graxos das manteigas através da redução nas concentrações dos ácidos graxos saturados de cadeia média, que são considerados aterogênicos e elevação dos teores de ácidos graxos monoinsaturados, poli-insaturados de cadeia longa e, principalmente, do CLA *cis*-9, *trans*-11, vacênico e oleico. Além do perfil diferenciado, foi possível obter manteigas com indicativos de melhor espalhabilidade e textura. As manteigas obtidas com os maiores níveis de inclusão podem ser consideradas

nutricionalmente interessantes para o consumo humano, pela redução dos índices de aterogenicidade e trombogenicidade e dos ácidos graxos hipercolesterolêmicos. Entretanto, a inclusão desses níveis crescentes de óleos de girassol na dieta parece comprometer a estabilidade oxidativa do produto levando a alterações com a progressão de tempo de armazenagem durante sua vida de prateleira, porém os efeitos negativos somente são observados a partir da extrapolação do tempo de prateleira convencional.

## **6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

American Heart Association. Heart and Stroke Statistical Update. **American Heart Association**, Dallas, Texas, 2000.

ANDRADE Jr., D. R.; SOUZA, R. B.; SANTOS, S. A.; ANDRADE, D. R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 31, n. 1, p. 60-68, 2005.

ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim CEPPA**, v.19, n.2, p.353-380, 2001.

- APPOLINÁRIO, P.P.; DEROGIS, P.B.M.C.; YAMAGUTI, T.H. et al. Metabolismo, oxidação e implicações biológicas do ácido docosahexaenoico em doenças neurodegenerativas. **Química Nova**, v.34, n.8, p.1-8, 2011.
- ARO, A., ANTOINE, J.M., PIZZOFERRATO, L., REYKDAL, O. e POPPEL, G. V. *Trans fatty acids in Dairy and Meat Products from 14 European Countries: The transfair study.* **Journal of Food Composition and Analysis.**, v. 11 p. 150-160, 1998.
- BAER, R.J., RYALI, J., SCHINGOETHE, D.J., KASPERSON, K.M., DONOVAN, D.C., HIPPEN, A.R. e FRANKILIN, S.T. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. **Journal of Dairy Science.**, v. 84, p. 345-353, 2001.
- BAUCCELLS, M.D.; CRESPO, N.; BARROETA, A.C. et al. Incorporation of different polyunsaturated fatty acids into eggs. **Poultry Science**, v.79, p.5-59, 2000.
- BAUMAN, D.E., BARBANO, D.M. e DWYER, D.A. Technical note: Production with enhanced conjugated linoleic acid for use in biomedical studies with animal models. **Journal of Dairy Science.**, n. 83, p. 2422-2425, 2000.
- BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; SCHROEDER, G.F. et al. Supplementing total mixed rations 'with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. **Animal Feed Science and Technology**, v.131,n.10, p. 226-240, 2006.
- BENJAMIN, S.; SPENER, F. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. **Journal of Nutrition & Metabolism.** v.6, n.1. 2009. Disponível em: [www.nutritionandmetabolism.com/content/6/1/36](http://www.nutritionandmetabolism.com/content/6/1/36). Acesso em 15 de outubro de 2013.
- BELITZ, H.D. e GROSCH W. Milk and dairy products. *In: Food Chemistry.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Cap. 10, p. 484-486, 1999.
- BERNARDINO, V.M.P. Relação entre ácidos graxos ômega-3 e nutrição de frangos de corte. **Revista Eletronica Nutrime**, v.6, n. 3, p.967-972, 2009.
- BESSA, R.J.B.; SANTOS-SILVA, J.; RIBEIRO, J.M.R. et al. Reticulo-rumen biohidrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. **Livestock Production Science**, v.63, n.3, p.201-211, 2000.
- BESSA, R.J.B. Revalorização Nutricional das Gorduras dos Ruminantes. Symposium Europeo Alimentación en el siglo XXI. **Anais.** Bajadoz. Colégio Oficial de Veterinários de Bajadoz p. 283-313, 1999.
- BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J.A.; FAGERTUN, H. et al. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **Journal of Nutrition**, v.130, n.12, p.2943-2948, 2000.
- BRAMLEY, P.M., ELMADFA, I., KAFATOS, A., KELLY, F.J. MANIOS, Y., ROXBOROUGH, H.E., SCHUCH, W., SHEEHY, P.J.A. e WAGNER, K.H. Vitamin E. **Journal of the Science of Food and Agriculture.**, v. 80 p. 913-938, 2000.
- BRANDÃO, S.C.C. Novas Gerações de Produtos Lácteos Funcionais. Indústria de Laticínios. **Revista Laticínios**, 2002. Disponível em <[www.revistalaticinios.com.br/main\\_frame/revista/ed\\_37/pdfs/fm4.pdf](http://www.revistalaticinios.com.br/main_frame/revista/ed_37/pdfs/fm4.pdf)>. Acesso em 14 de



janeiro de 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Divisão de Normas Técnicas. Resolução Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Manteiga. Resolução Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Manteiga**. Brasília, p. 5, 1996.

BREDA, J. **Fundamentos de Alimentação, Nutrição e Dietética**. Mar da Palavra Edições Ltda., Coimbra, Portugal., p. 21-25, 2003.

CARDOZO, L. Perfil de ácidos graxos, estabilidade oxidativa e aspectos sensoriais do leite de vacas suplementadas com óleo de linhaça na dieta e selenito de sódio injetável. Santa Maria. Faculdade de Medicina Veterinária, UFSM. **Dissertação** (Mestrado Medicina Veterinária), 50f, 2011.

CARMO I. Alimentos Funcionais. *In: Alimentação Saudável Alimentação Segura*. Lisboa: Capítulo 5. Edições Dom Quixote, p. 409-411, 2004.

CHEW, B.P., WONG, T.S., SHULTZ, T.D. e MAGNUSON, N.S. Effects of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and beta-carotene in modulating lymphocyte and macrophage function. **Anticancer Research**.,v. 17 p. 1099-1106, 1997.

CHIARA, V.L.; SICHIERI, R.; CARVALHO, T.S.F. Teores de ácidos graxos trans de alguns alimentos consumidos no Rio de Janeiro. **Revista de Nutrição**, v.16, n.2, p.227-233, 2003.

CHIN, S.F., LIU, W., STORKSON, J.M., HA, Y.L. e PARIZA, M.W. Dietary sources of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. **Journal of Food Composition and Analysis**., v.5, p. 185-187, 1992.

CHIZZOLINI, R., ZANARDI, E., DORIGONI, V. e GHIDIN, S. Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. **Trends in Food Science & Technology**., v. 10 p. 119-128, 1999.

CHOE, E.; MIN, D.B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Reviews in Food Science and Food Safety**, v.5, n.4, p.169-186, 2006.

COLLOMB, M., BUTIKOFER, U., SIEBER, R., BOSSET, J.O. e JEANGROS, B. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high resolution gas chromatography. **International Dairy Journal**., v. 12, p. 649-659, 2002.

COOK, M.E.; PARIZA, M. The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. **International Dairy Journal**, v.8, p.459-462, 1998.

COLLOMB, M.; SCHMID, A.; SIEBER, R. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: variation and physiological effects. **International Dairy Journal**, v.16, n.11, p.1347-1361, 2006.

COLLOMB, M.; SIEBER, R.; BÜTIKOFER, U. CLA isomers in milk fat from cows fed diets with high levels of unsaturated fatty acids. **Lipids**, v.39, n.4, p.355-364, 2004a.

COLLOMB, M.; SOLLBERGER, H.; BÜTIKOFER, U. et al. Impact of a basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflowerseed on the fatty acid composition of milk fat. **International Dairy Journal**, v.14, p.549-559, 2004b.

CORL, B.A., BAUMGARD, L.H., GRIINARI, J.M., DELMONTE, P., MOREHOUSE, K.M. e YURAWECZ, M.P. *Trans-7, cis-9 CLA* is synthesized endogenously by  $\Delta 9$ -desaturase in dairy cows. **Lipids.**, v. 37, p. 681-688, 2002.

DAGHIR, N.J.; RAZ, M.A.; UWAYJAN, M. Studies the utilization of full fat sunflower seed in broiler rations. **Poultry Science**, v.59, p.2273-2278, 1980.

DEBIER, C., POTTIER, J., GOFFE, C. e LARONDELLE, Y. Present knowledge and unexpected behaviours of vitamins A and E in colostrums and milk. **Livestock Production Science.**, v. 98, p. 135-147, 2005.

DEWHURST, R.J.; SHINGFIELD, K.J.; LEE, M.R.F. et al. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, n.3, p.168–206, 2006.

DEPARTMENT OF HEALTH Nutritional Aspects of Cardiovascular disease: Report on **Health and Social Subjects**. n° 46, 1994.

DHIMAN, T.R.; KOREVAAR, A.C.; SATTER, L.D. Particle size of roasted soybeans and the effect on milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1722-1727, 1997.

DHIMAN, T. R., NAM, S. e URE, A. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.**, v. 45, p. 463-482, 2005.

DIETSCHY, J.M. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. **Journal of Nutrition.**,v. 128, p. 444S-448S, 1998.

DIETSCHY, J.M., WOOLLET, L.A. e SPADY, D.K. The interaction of dietary cholesterol and specific fatty acid in the regulation of LDL receptor activity and plasma LDL cholesterol concentrations. **Anais. New York Academy Science.**, v. 676, p. 11-26, 1993.

ELDIN, A.K.; YANISHLIEVA, N.V. N-3 fatty acids for human nutrition:stability considerations. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.104, p.825–836, 2002.

ELGERSMA, A.; TAMMINGA, S.; ELLEN, G. Modifying milk composition through forage. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, n.3, p.207-225, 2006.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação de Medicina do Brasil**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Fats and Oils in Human Nutrition **Divisão de publicações FAO**, Roma, Itália. ISBN 92-5-10. P. 3621-3627, 1994.

FRANKEL, E.N.; HUANG, S.W.; KANNER, J. et al. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs emulsions. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.42, n.5,

p.1054-1059, 1994.

FRITSCHÉ, J. e STEINHART, H. *Trans* fatty acid content in German margarines **Lipid-Fett**. V. 99, p. 214-217, 1997.

FRITSCHÉ, J. e STEINHART, H. Analysis, occurrence, and physiological properties of *trans* fatty acid (TFA) with particular emphasis on conjugated linoleic acid isomers (CLA): A review. **Lipid-Fett.**, v. 100, p. 190-210, 1998.

FRITSCHÉ, J., RICKERT, R., STEINHART, H., YURAWECZ, M.P., MOSSOBA, M.M., SEHAT, N., ROACH, J.A.G., KRAMER, J.K.G. e KU, Y. Conjugated linoleic acid (CLA) isomers: formation, analysis, amounts in foods, and dietary intake. **Lipid-Fett.**, v. 101, p. S272-276, 1999.

GAULLIER, J.M.; HALSE, J.; HØYE, K. et al. Conjugated linoleic acid supplementation for one year reduces body fat mass in healthy overweight humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, n.6, p.1118-1125, 2004.

GAMA, M.A.S. Produção de leite com alto teor de ácido linoléico conjugado (CLA).In: 11º CONGRESSO PAN-AMERICANO DO LEITE, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 2010.

GERMAN, B.J. e DILLARD, J.C. Composition, structure and absorption of milk lipids: A source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.**, v. 46, p. 57-92, 2006.

GONZALES, S.; DUNCAN, S.E.; O'KEEFE, S.F. et al. Oxidation and textural characteristics of butter and ice cream with modified fatty acid profiles. **Journal Dairy Science**, v.86, n.1, p.70-77, 2003.

GRIFFIN, B. A. Lipoprotein atherogenicity: an overview of current mechanisms. **The Proceeding of the Nutrition Society.**, v. 58, p. 163-169, 1999.

GRIINARI, J.M.; DWYER, D.A.; McGUIRE, M.A. et al. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.5, p.1251-1261, 1998.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H. et al. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta (9)-desaturase. **Journal of Nutrition**, v.130, n.9, p.2285-2291, 2000.

HOLMAN, R.T. e MAHFOUZ, M.M. *Cis* and *trans*- octadecenoic acids as precursors of polyunsaturated fatty acids. **Progress Lipid Research.**, v.20 p. 151-156, 1981.

HU, X., JANDACEK, R.J. e WHITE, W.S. Intestinal absorption of beta-carotene ingested with a metal rich in sunflower oil beef tallow: Postprandial appearance in triacylglycerol- rich lipoproteins in women. **American Journal of Clinical Nutrition.**, v. 71, p. 1170-1180, 2000.

HUGHES, P.E., HUNTER, W.J. e TOVE, S.B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids: Purification and properties of cis9, trans11-octadecadienoate reductase. **Journal of Biological Chemistry.**, v. 257, p. 3643-3649, 1982.

HUR, S.J.; PARK, G.B.; JOO, S.T. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. **Livestock Science**, v.110, n. 3, p. 221-229, 2007.

IP, C.; DONG, Y.; IP, M.M. et al. Conjugated linoleic acid isomers and mammary cancer prevention. **Nutrition and Cancer**, v.43, n.1, p.52-58, 2002.

JADHAV, S. J.; NIMBALKAR, S. S.; KULKARNI, A. D.; MADHAVI, D. L. Lipid oxidation in biological and food systems. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKE, D. K. **Food antioxidants – technological, toxicological and health perspectives**. USA: Marcel Dekker Inc, p. 5-63, 1996.

JAHREIS, G., FRISTSCHKE, J. e STEINHART, H. Monthly variations of milk composition with special regards to fatty acids depending on season and farm management systems – Conventional versus ecological. **Lipid – Fett.**, v. 98 p. 356-359, 1996.

JAHREIS, G. e KRFAT, J. Sources of conjugated linoleic acid in the human diet. **Lipid Technology.**, v. 14, p. 295-350, 2002.

JENSEN, R.G. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. **Journal of Dairy Science.**, v. 85, p. 285-350, 2002.

JORGE, N.; GONCALVES, L.A.G. Comportamento do óleo de girassol com alto teor de ácido oléico em termoxidação e fritura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.3, p.335-342, 1998.

KALSCHUR, K.F.; TETER, B.B.; PIPEROVA, L.S. et al. Effect of fat source on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.9, p.2115-2126, 1997.

KELLY, M.L.; BERRY, J.R.; DWYER, D.A. et al. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. **Journal of Nutrition**, v.128, n.1, p.881-885, 1998.

KEPLER, C.R.K.P, HIRONS, J.J. e MCNEILL, O. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry.**, v. 241, p. 1350-1354, 1966.

KEPLER, C.R., e TOVE, S.B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. 3. Purification and properties of a linoleate  $\Delta^{12}$  - cis,  $\Delta^{11}$  - trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry.**, v. 242, p. 5686-5692, 1967.

KEPLER, C.R.; TUCKER, W.P.; TOVE, S.B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate  $\Delta^{12}$ -cis,  $\Delta^{11}$ -trans isomerase from *butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry**, v.245, n.14, p.3612-3620, 1970.

KELSEY, J.A.; CORL, B.A.; COLLIER, R.J.; BAUMAN, D.E. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 86, n. 8, p. 2588-2597, 2003.

KHOSLA, P., HAJIRI, T., PRONCZUCK, A. e HAYES, K. C. Replacing dietary palmitic acid with elaidic acid (t-C18:1  $\Delta$  - 9) depress HDL and increases CETP activity in Cebus monkeys. **Journal of Nutrition.**, v.127, p. 531S-532S, 1997.

KIRK, R.J. Biological availability of nutrients in processed foods. **Journal of Chemical Education**, v.61, n.4, p.364-367, 1984.

KRAMER, J.K., PARODI, P.W., JENSEN, R.G., MOSSOBA, M.M., YURAWECZ, M.P. e ADOLF, R.O. Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. **Lipids.**, v. 33, p. 835, 1998.

KRAFT, J., COLLOMB, M., MOCKEL, P., SIEBER, R. e JAHREIS, G. Differences in CLA isomers distribution of cow's milk lipids. **Lipids.**v. 38, p. 657-664, 2003.

KRAMER, J.K.G.; PARODI, P.W.; JENSEN, R.G. et al. Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. **Lipids**, v.33, n.8, p.835, 1998.

KROMHOUT, D. Epidemiology of cardiovascular diseases in Europe. **Public Health Nutrition**. 4(2B) p. 441-457, 2001.

KROMHOUT, D., MENOTTI, A. e BLOEMBERG, B. Dietary saturated and *trans* fatty acids and cholesterol and 25 - year mortality from coronary heart disease: The Seven Countries Study. **Preventive Medicine.**, v.24, p. 308-31, 1995.

LAWLESS, F.; STANTON, C.; L'ESCOP, P. et al. Influence of breed on bovine milk cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid content. **Livestock Production Science**, v.62, n.1, p.43-49, 1999.

LIN, H., BOYLSTON, T.D., CHANG, M.J., LUEDECKE, L.O. e SHULTZ, T.D. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. **Journal of Dairy Science.**, v. 78, p. 2358-2365, 1995.

LÓPEZ, S. E. Suplementação com diferentes fontes de gordura para vacas Jersey de alta produção na fase inicial da lactação. 2001. 176f. **Tese** (Doutorado em Zootecnia)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2001.

LOOR, J.J.; HERBEIN, J.H. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acids synthesis. **The Journal of Nutrition**, v.128, p.2411-2419, 1998.

LOPES, F.C.F.; RIBEIRO, C.G.S.; RIBEIRO, M.T. et al. Milk fatty acid profile from dairy cows fed increasing levels of soybean oil in diets based on tropical forage. In: XITH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY. 11. 2009. **Clermont-Ferrant. Proceedings...** Wageningen:Wageningen Academic Publishers, p.588-589, 2009.

LORGERIL, M. DE; SALEN, P. Fish and n-3 fatty acids for the prevention and treatment of coronary heart disease: nutrition is not pharmacology. **The American Journal of Medicine**, v.112, n.4, p.316-319, 2002.

- MACGIBBON, A.K.H., VAN DER DOES, Y.E.H., FONG, B.Y., ROBINSON, N.P. e THOMSON, N.A. Variations in the CLA content of New Zealand Milk. **Australian Journal of Dairy Technology.**, v. 56, p. 158, 2001.
- MALLIA, S.; PICCINALI, P.; REHBERGER, B. et al. Determination of storage stability of butter enriched with unsaturated fatty acids/conjugated linoleic acids (UFA/CLA) using instrumental and sensory methods. **International Dairy Journal**, v.18, n.10-11,p.983-993, 2008.
- MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v.19, p.761-770, 2006.
- MATHIAS, M.M. e DUPONT, J. The relationship of dietary fats to prostaglandin biosynthesis. **Lipids.**, v. 14, p. 247-252, 1979.
- MCNAMARA, D.J. Dietary cholesterol and atherosclerosis. **Biochimia et Biophysica Acta.** 1529, p. 310-320, 2000.
- MENDONÇA, A.C. Atividade antioxidante de poliaminas e comparação com produtos naturais e sintéticos. **Dissertação.** (Mestrado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte., 86f., 2009.
- MIDDAUGH, R.P.; BAER, R.J.; CASPER, D.P. et al. Characteristics of milk and butter from cows fed sunflower seeds. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.3179–3187, 1988.
- MILLER, C.C.; PARK, Y.; PARIZA, M.W. et al. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.198, n.3, p.1107-1112, 1994.
- MOLKENTIN, J. Occurrence and biochemical characteristics of natural bioactive substance in bovine milk lipids. **British Journal of Nutrition.**, v. 84, Suppl.1, S47-S53, 2000.
- MONTOVANI-BETT, C. Utilização do farelo e da semente de girassol na alimentação de frangos de corte. 1999. 40p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1999.
- MOREIRA, A. FONSECA, J., RODRIGUES, J. e VAZ, M. Ácidos gordos poli-insaturados  $\omega$ -3. Que papel na imunomodulação. **Revista Portuguesa de Alimentação Humana.**, v. 63, p. 12-28, 2000.
- MOSLEY, E.E., POWELL, G.L., RILEY, M.B. e JENKINS, T.C. Microbial biohydrogenation of oleic acid to *trans* isomers in vitro. **Journal of Lipid Research.**, v. 43, p. 290-296, 2002.
- NESTEL, P., CLIFTON, P. e NOAKES, M. Effects of increasing dietary palmitoleic acid compared with palmitic and oleic acids on plasma lipids of hypercholesterolemic men. **Journal of Lipid Research.**, v.35, p. 656-662, 1994.
- NRC-National Research Council. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** Seventh Revised Edition. Washington, D. C. National Academy Press. 2001.

- NÖRNBERG, J. L. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey na fase inicial de lactação. 2003. 199f. **Tese** (Doutor em Zootecnia)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2003.
- O'BRIAN, N. M.; AHERNE, S. A.; KERRY, J. P. Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. **British Journal of Nutrition**, v. 97, n. 2, p. 321-328, 2007.
- O'CONNOR, T. P.; O'BRIEN, N. M. Lipid oxidation. In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Advanced dairy chemistry – lipids**. 3 ed. USA: Springer, p. 557-600, 2006.
- OLIVEIRA, M.F.; VIEIRA, O.V. Extração de óleos de girassol utilizando miniprensa-EMBRAPA, **Documentos**. n. 237, p.30, 2004.
- PALMQUIST, D.L; MATTOS, W.R.S. Nutrição de Ruminantes. In: BERCHIELLI, T.T. (Ed.). **Metabolismo de Lipídeos**. [s.n.]. Jaboticabal: FUNEP, p.287-309, 2006.
- PARIZA, M.W., PARK, Y. e COOK, M.E. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: Evidence and speculation. **Experimental Biology and Medicine**., v. 223, p. 8-13, 2000.
- PARIZA, M.W., PARK, Y. e 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. et al. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v.31, n.8, p.853-858, 1997.
- PARODI, P.W. Conjugated linoleic acids: An anticarcinogenic fatty acid present milk fat. **Australian Journal of Dairy Technology**. v. 49, p. 93-97, 1994.
- PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**., v. 82, n.6, p.1339-1 349, 1999.
- PIPEROVA, L.S., SAMPUGNA, J., TETER, B.B., KALSCHEUR, K.F., YURAWECZ, M.P. e KU, Y.- Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9-containing CLA in lactating dairy cows. **Journal of Nutrition**., v. 132, p. 1235-1241, 2002.
- POLLARD, M.R., GUNSTONE, F.D., JAMES, A.T. e MORRIS, L.J. Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. **Lipids**., v. 15 p.306-314, 1980.
- PRADO, A.C.P. Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch). Florianópolis: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. **Dissertação**. (Mestrado em Ciência dos Alimentos), 131f., 2008.
- PRATES, J.A. e MATEUS, C.M.R.P. Componentes com atividade fisiológica dos alimentos de origem animal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**., v. 97, p. 541, 3-12, 2002.
- RAFF, M.; THOLSTRUP, T.; TOUBRO, S. et al. Conjugated linoleic acids reduce body fat in healthy postmenopausal women. **Journal of Nutrition**, v.139, n.1, p.1-6, 2009.

- REIS, R.B.; GLÓRIA, J.R.; VIEIRA, L.R. et al. Manipulação da composição do leite pela nutrição da vaca. In: Simpósio do Agronegócio do Leite: produção, gestão e qualidade. **Anais...** Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 2004.
- RIBEIRO, C.G.S; LOPES, F.C.F.; RIBEIRO, M.T. et al. Estabilidade oxidativa da gordura do leite de vacas alimentadas com dietas à base de capim elefante contendo níveis crescentes de óleo de girassol. In: In: 48<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 48, 2011, Belém. **Anais...** Belém: SBZ, 2011.
- RISÉRIUS, U.; BERGLUND, L.; VESSBY, B. Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomized controlled trial. **International Journal of Obesity**, v.25, n.8, p.1129-1135, 2001.
- ROCHA, L.A.C. Qualidade do leite de búfala e desenvolvimento de bebida láctea com diferentes níveis de iogurte e soro de queijo. Itapetinga. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, **Dissertação**, (Mestrado em Engenharia de Alimentos), 82f. . 2008.
- RODRIGUES, J.N. Desenvolvimento de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura do leite, óleo de girassol e ésteres de fitosteróis para aplicação em spreads. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP. (**Tese**. (Doutorado tecnologia Bioquímico-Farmacêutica), 164f., 2006.
- RODRIGUEZ- ALCALÁ, L. M.; FONTECHA, J. Fatty Acid and Conjugated Linoleic Acid (CLA) Isomer Composition of Commercial CLA-Fortified Dairy Products: Evaluation After Processing and Storage. **Journal of Dairy Science.**, n. 90 (5), p. 2083-2090, 2007.
- SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C; LANA, R.P. Efeito da suplementação de lipídios na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n. 6, p.1936-1938, 2001.
- SANTOS-SILVA, J., BESSA, R.J.B. e SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: Fatty and composition of meat. **Livestock Production Science.**, v. 77, p. 187-194, 2002.
- SCHAFHÄUSER, J. JR. Níveis crescentes de gordura de arroz para vacas leiteiras de alta produção no início da lactação. 2005. 140f. **Tese** (Doutor em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2005.
- SESSLER, A.M. e NTAMBI, J.M. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. **Journal of Nutrition.**, v. 128, p. 923-926, 1998.
- SHANTHA, N.C., DECKER, E.A. e USTUNOL, Z. Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese. **Journal of the American Oil Chemists Society.**, v. 69 p. 425-428, 1992.
- SHANTHA, N.C., RAM, L.N., O'LEARY, J., HICKS, C.L. e DECKER, E.A. Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. **Journal of Food Science.**, v. 60, p. 695-697, 1995.
- SHER, J.; PRONCZUK, A.; HAJRI, T. et al. Dietary conjugated linoleic acid lowers plasma cholesterol during cholesterol supplementation, but accentuates the atherogenic lipid profile during the acute phase response in hamsters. **Journal of Nutrition**, v.133, n.2, p.456-460,



2003.

SIEBER, R., COLLOMB, M., AESCHLIMANN, A., JELEN, P. e EYER, H. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 1-15, 2004.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v.22, n.1, p.94-103, 1999.

SILVA HERNÁNDEZ, E.R; JÁCOME, M.M.S; LEE, R.G.H. Alto contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y productos derivados al incorporar semillas de girasol a la dieta vacuna. Implicaciones sobre el riesgo trombo/aterogênico. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.57, n. 2, p.173-178, 2007.

SIMOPOULOS, A.P. Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA - Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v. 79, p. 961-970, 2000.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.56, p. 365-379, 2002.

SMITH, D.R., KNABE, D.A., CROSS, H.R. e SMITH, S.B. A diet containing myristoleic plus palmitoleic acids elevates plasma cholesterol in young growing swine. **Lipids**, v.31, p.849-858, 1996.

SPECTOR, A.A. e YOREK, M.A. Membrane lipid composition and cellular function. **Journal of Lipid Research**, v.26, p. 1015-1035, 1985.

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

TACO- **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – TACO 4ª edição revisada e ampliada, UNICAMP, p.42, 2011.

TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Journal of Animal Science**, v.76, n.4, p.291-303, 2005.

TAYLOR, C. L. Regulatory Frameworks for Functional Foods and Dietary Supplements. **Nutrition Reviews**, Vol. 62, No. 2, February, p.55–59. 2006.

TROISI, R., WILLET, W.C. e WEISS S.T. *Trans*-fatty intake in relation to serum lipid concentrations in adult men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, p. 1019-1024, 1992.

TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal of Fish Science**, v.1, n.2, p.97-103, 2007.

TURPEINEN, A.A.; YLONEN, N.; VON WILLEBRAND, E. et al. Immunological and metabolic effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid in subjects with birch pollen allergy. **The Journal of Nutrition**, v.100, n.1, p.112-119, 2008.

TURPEINEN, A.M; MUTANEN, M; ARO, A. et al. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. **American Journal of Clinical Nutrition.**, v.79, n.3, p.504-510, 2002.

VANDEN HEUVEL, J.P. Peroxisome proliferators-activated receptors: a critical link among fatty acids, gene expression and a carcinogenesis. **Journal of Nutrition.**, v. 129, p. 575S-580S, 1999.

WAHLE, K.W.J. Fatty acid modification and membrane lipids. **Proceeding of the Nutrition Society.**, v. 42, p. 273-287, 1983

WATTS, G.F., JACKSON, P., BURKE, V. e LEWIS, B. Dietary fatty acids and progression of coronary artery disease in men. **American Journal of Clinical Nutrition.** 64 p. 202-209, 1996.

WEGGEMANS, R.M., ZOCK, P.L., URGENT, R. e KATAN, M.B. Differences between men and women in the response of serum cholesterol to dietary changes. **European Journal of Clinical Investigation.**, v. 29, p. 827-834, 1999.

WIJLEN, R.P.J.V.; COLOMBANI P.C. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid with estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. **International Dairy Journal**, v.20, n.7, p.433-448, 2010.

WOLFF, R.L. Contribution of *trans*-18:1 acid from dairy fat to European diets. **Journal of the American Oil Chemists Society.**, v. 71, p. 277-283, 1994.

WONG, M.W., CHEW, B.P., WONG, T.S., HOSICK, H.L., BOYLSTON, T.D. e SHULTZ, T.D. Effects of dietary conjugated linoleic acid on lymphocyte function and growth of mammary tumors in mice. **Anticancer Research.**, v. 17, p. 987-993, 1997.

WOOD, J.D. e ENSER, M. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. **British Journal of Nutrition.** Suppl. 1, p. S49-S60, 1997.