



**UNICAMP**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**NATALIA ANDRADE ZANCAN**

**COMPOSIÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE LEITE  
UHT INTEGRAL, DESNATADO, SEMIDESNATADO E EM PÓ  
INTEGRAL COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DA CIDADE  
DE CAMPINAS/SP**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA À FACULDADE DE  
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP PARA A OBTENÇÃO DO  
TÍTULO DE MESTRE EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**PROFESSOR DOUTOR MARCELO ALEXANDRE PRADO**

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação “Composição e Quantificação de Ácidos Graxos de Leite UHT Integral, Desnatado, Semidesnatado e em Pó Integral Comercializados em Supermercados da Cidade de Campinas/SP” defendida por Natalia Andrade Zancan, aprovada pela comissão julgadora em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ e orientada pelo Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado.

---

**Assinatura do Orientador**

**CAMPINAS, 201**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
LUCIANA P. MILLA – CRB8/8129- BIBLIOTECA DA FACULDADE DE  
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

Z15c Zancan, Natalia Andrade, 1984-  
Composição e quantificação de ácidos graxos de leite UHT integral, desnatado, semidesnatado e em pó integral comercializados em supermercados da cidade de Campinas/SP / Natalia Andrade Zancan. -- Campinas, SP: [s.n], 2012.

Orientador: Marcelo Alexandre Prado.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Leite de vaca. 2. Ácidos graxos. 3. Cromatografia gasosa. 4. Lipídios. I. Prado, Marcelo Alexandre. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Profiles and quantification of full, skimmed, semiskimmed UHT milk and whole milk powder fatty acids commercializes in the city of Campinas/SP

Palavras-chave em inglês (Keywords):

Cow milk

Fatty acids

Gás chromatography

Lipids

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Marcelo Alexandre Prado [Orientador]

Helena Teixeira Godoy

Jesuí Vergílio Visentainer

Juliana Izabelle Simionato

Nilson Evelázio de Souza

Data da defesa: 23/02/2012

Programa de Pós Graduação: Ciência de Alimentos

## **BANCA EXAMINADORA**

---

**Doutor Marcelo Alexandre Prado**

Orientador

---

**Doutor Jesuí Vergílio Visentainer**

Membro Titular

---

**Doutor Nilson Evelázio de Souza**

Membro Titular

---

**Doutora Helena Teixeira Godoy**

Membro Suplente

---

**Doutora Juliana Izabelle Simionato**

Membro Suplente



“A imaginação é mais importante do que a ciência. Porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro.”

*Albert Einstein*

“Que o alimento seja a tua medicina e que o medicamento seja o teu alimento.”

*Hipócrates (há 2.500 anos)*



Dedico este trabalho a todos da minha família que me apoiaram e possibilitaram que eu continuasse meus estudos e a todos os colegas que me auxiliaram nesta longa e difícil jornada.





## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Fernando e Márcia, por estar ao meu lado nas horas difíceis, me dando apoio nos momentos que precisei na busca da realização de meus sonhos e realização profissional.

Ao meu namorado, companheiro e amigo, Guilherme, por estar sempre ao meu lado me incentivando, me apoiando e sempre disposto a me ajudar quando precisei.

Aos colegas de laboratório, Cristiano Augusto Ballus, Stanislaw Bogusz Junior e Pedro Prates Valério pela ajuda, paciência e compreensão quando eu recorria a eles. Por serem tão prestativos e, muitas vezes, deixarem de lado suas atividades e ocupações do momento para me auxiliarem.

A todos meus colegas do Laboratório de Análise Instrumental de Alimentos, pelos momentos de descontração, pelos conselhos, conversas, consolos e tudo que passamos juntos.

À Lika Anbe, que demonstrou muito mais que amizade neste período de minha vida e teve participação fundamental para que este trabalho fosse concluído.

À professora doutora Juliana Azevedo Lima Pallone, por também me dar força e apoio, pelo carinho, amizade e aprendizado que me proporcionou no período do Programa de Estágio Docente (PED).

Ao doutor Renato Grimaldi, coordenador científico da Planta Piloto de Óleos e Gorduras do Departamento de Tecnologia de Alimentos da FEA, por toda a ajuda, auxílio, educação, paciência e carinho com que me tratou todas as vezes que o procurei para sanar minhas dúvidas, além das preciosas dicas dadas como membro da banca de meu exame de qualificação.

À técnica responsável pelo laboratório da Planta Piloto de Óleos e Gorduras do Departamento de Tecnologia de Alimentos da FEA, Rosana Nogueira, por todo auxílio e ensinamentos.

Ao Professor Doutor Nilson Evelázio da Universidade Estadual de Maringá, ao Professor Doutor Roger Wagner da Universidade Federal de Santa Maria, a Professora Doutora Juliana Izabelle Simionato da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia por estarem sempre dispostos a ajudar quando necessitei.

À Cristina Boccato Ferreira, técnica do laboratório, pelos ensinamentos e apoio técnico, mas também pela amizade.

Ao senhor Dirceu, por sua disposição e exemplo de dedicação ao trabalho, que facilitou a condução dos experimentos realizados para a concretização deste projeto de pesquisa.

Aos funcionários da Secretária de Pós – Graduação, Marcos Sampaio e Cosme Perota, pelo suporte e prontidão para auxiliar na resolução das nossas dúvidas sempre que precisamos.

Às funcionárias da secretaria do DCA, Guiomar e Marquinhos, por toda a atenção e suporte dado durante o período do mestrado e, principalmente, à Jardete que foi muito atenciosa e prestativa quando precisei dela.

Aos colegas das disciplinas que cursei, por todo aprendizado que tivemos juntos nas atividades em grupo e aos professores docentes destas disciplinas também, por transmitir e compartilhar seu conhecimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos concedida.

Ao CBO Análises Laboratoriais, por todo suporte, auxílio e dicas dadas que foram relevantes para a conclusão do trabalho.

Por fim, agradeço também a todos que, mesmo não sendo citados, colaboraram comigo neste período de realização do meu mestrado.



# ÍNDICE GERAL

RESUMO GERAL .....	xviii
ABSTRACT .....	xix
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	4
CAPÍTULO 1 .....	6
ASPECTOS GERAIS E VISÕES MERCADOLÓGICAS DO CONSUMO DE LEITE E TÉCNICAS DE IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM LEITE.	6
1    REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	7
1.1    Leite – Definição e Conceitos Básicos .....	7
1.2    Histórico do Consumo de Leite .....	8
1.3    Comportamento da Gordura no Leite .....	8
1.4    Definição do Leite quanto ao seu Aspecto e Tipos de Leite quanto ao processamento, Conteúdo de Matéria Graxa e Nível Microbiológico	10
1.5    Aspectos fisiológicos e nutricionais dos Ácidos Graxos: .....	14
1.6    O Consumo de Ácidos Graxos poliinsaturados n-3 e n-6: .....	15
1.7    Ácidos Graxos poliinsaturados n-3 e n-6 e a relação entre eles: .....	17
1.8    Ácidos Graxos e sua relação com a saúde: .....	18
1.9    Os ácidos graxos na alimentação e fisiologia dos animais ruminantes e a importância da Ingestão de Ácidos Graxos para o Ser Humano:	20
1.10    As Controvérsias do Consumo de Leite .....	23
1.11    Panorama Geral do Mercado Leiteiro no Brasil .....	26
1.12    A Cromatografia Gasosa na Análise de Alimentos e outras Técnicas Analíticas	31
1.13    Referências Bibliográficas .....	37
CAPÍTULO 2 .....	45
COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DE LEITES DE VACA COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DA CIDADE DE CAMPINAS/SP	45
RESUMO .....	46
ABSTRACT .....	48
2.1    INTRODUÇÃO .....	50
2.1.1    Métodos de Extração .....	55
2.2    MATERIAIS E MÉTODOS .....	60
2.2.1    Extração da Gordura Total das Amostras de Leite Analizadas .....	60

2.2.2	Reagentes utilizados para Preparo dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos	60
2.2.3	Preparo dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos - Derivatização .....	60
2.2.4	Análise Cromatográfica: Identificação e Quantificação dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos	61
2.2.4.1	Material .....	62
2.2.4.2	Reagentes .....	63
2.2.4.3	Procedimento .....	63
2.2.5	Análise Estatística .....	66
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	66
2.4	CONCLUSÕES .....	84
2.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	84
	CONCLUSÃO GERAL .....	92
	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS .....	94
	ANEXOS .....	95



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Evolução brasileira do consumo de leite longa vida de 1995 a 2009 (em milhões de litros) .....	28
Figura 5.1 - Cromatograma da Amostra de Leite em Pó Integral de Vaca (Marca 1 - Lote 1 ) .....	97
Figura5.2 - Cromatograma da Amostra de Leite Integral UHT de Vaca (Marca 1 - Lote 1 ) .....	97
Figura5.3 - Cromatograma da Amostra de Leite Semidesnatado UHT de Vaca (Marca 1 - Lote 1 )	98
Figura5.4 - Cromatograma da Amostra de Leite Desnatado UHT de Vaca (Marca 1 - Lote 1 ) .....	98

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 - Consumo de leite no Brasil entre os anos de 1985 e 2000. ....	27
Tabela 1.2 - Exportações e Importações de leite e Derivados pelo Brasil no período de 1995 a 2001 .....	28
Tabela 1.3 - Balança Comercial de Lácteos 2008 e 2009 e suas variações .....	29
Tabela 1.4 - Estimativa da Produção, Consumo e Exportação de Leite no Brasil nos Próximos 10 anos	30
Tabela 2.1 - Ácidos Graxos Presentes no Leite e a Função Atribuída na Manutenção da Saúde .....	57
Tabela 2.2 - Perfil de Ácidos Graxos da Gordura do Leite de Várias Espécies (em g/100g) .....	59
Tabela 2.3 - Fatores e Sua Influência na Variação da Gordura do Leite .....	59
Tabela 2.4 - Informações Contidas nas Embalagens dos Leites Analisados .....	61
Tabela 2.5 - Composição dos Lipídios Totais das Amostras de Leite de Vaca em g/100mL de amostra .	69
Tabela 2.6 - Ácidos Graxos Presentes no Leite Desnatado - Marca 1.....	72
Tabela 2.7 - Ácidos Graxos Presentes no Leite Desnatado - Marca 2 .....	73
Tabela 2.8 - Ácidos Graxos Presentes no Leite Semidesnatado - Marca 1 .....	76
Tabela 2.9 - Ácidos Graxos Presentes no Leite Semidesnatado - Marca 2.....	77
Tabela 2.10 - Ácidos Graxos Presentes no Leite Integral - Marca 1 .....	81
Tabela 2.11 - Ácidos Graxos Presentes no Leite Integral - Marca 2 .....	82
Tabela 2.12 - Ácidos Graxos Presentes no Leite Integral em Pó - Marca 1.....	84
Tabela 2.13 - Ácidos Graxos Presentes no Leite Integral em Pó - Marca 2 .....	85
Tabela 5.1 - Fatores de Conversão de Éster Metílico de Ácido Graxo para Ácido Graxo.....	99





## RESUMO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a composição em ácidos graxos, componentes principais das moléculas de lipídios de leites UHT desnatado, semidesnatado, integral e em pó integral de vaca, de algumas marcas comercializadas em supermercados de Campinas/SP. No estudo, foi dado ênfase na qualidade nutricional dos leites relacionado à presença e quantidade dos ácidos graxos considerados benéficos à saúde. Para tanto, observou-se as razões insaturados/saturados, ômega 3/ômega 6, quantidade de ácidos graxos de cadeia curta, média e com 18 carbonos utilizando parâmetros muito discutidos na literatura internacional. Para tal, foi utilizada a técnica de cromatografia a gás. No final do estudo, foram obtidos dados da existência ou não de diferença entre lotes de um mesmo fabricante e fabricantes diferentes, através do Teste de Tukey. No leite desnatado UHT, foram encontradas quantidades muito pequenas ou não foram detectados ácidos graxos benéficos à saúde encontrados normalmente no leite. No leite semidesnatado UHT foram detectados ácidos graxos essenciais (EPA e DHA) em pequena quantidade e não foi detectado ácido linolênico conjugado (CLA). No leite Integral UHT houve diferenças significativas nos ácidos graxos saturados e alguns insaturados. O CLA foi encontrado em todos os lotes de ambas as marcas, com exceção do lote 2 da marca 1. No leite em pó integral, não foi encontrado o CLA e foram encontradas baixas quantidades de EPA e DHA.

**Palavras chaves:** leite de vaca, lipídios, ácidos graxos, cromatografia gasosa.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the fatty acid composition, major components of the lipid molecules of UHT skim , semi skimmed, full and powdered full cow's milk, some brands sold in supermarkets in Campinas / SP. In the study, emphasis was on the nutritional quality of milk related to the presence and quantity of fatty acids considered beneficial to health. For this, we observed the reasons unsaturated / saturated, omega 6/omega 3, amount of short chain fatty acids, medium, and 18 carbons using parameters discussed in the literature. To this end, we used the technique of gas chromatography. At the end of the study, data were obtained from the existence of differences between batches of the same manufacturer and different manufacturers, using the Tukey test. In UHT skim milk, were found too small and were not detected fatty acids health benefits normally found in milk. In the UHT semi-skimmed milk was found essential fatty acids (EPA and DHA) in small amounts and wasn't detected conjugated linoleic acid (CLA). In UHT full milk there were significant differences in saturated fatty acids and some unsaturated. CLA was found in all batches of both brands, with the exception of part 2 of a brand 1. In milk full powder, CLA wasn't found and found low amounts of EPA and DHA.

**Key words:** cow's milk, lipids, fatty acids, gas chromatography

## INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, o setor leiteiro se destaca como um dos setores agroindustriais que mais cresce no Brasil, devido a sua grande importância social e econômica e por ser produzido em todo o território nacional (Carvalho *et al.*, 2003).

Com o advento do consumo de leite longa vida (UHT ou esterilizado comercialmente) e o crescimento dos produtos de maior valor agregado como iogurtes, queijos e sobremesas, houve uma maior demanda da indústria de laticínios por aumento de produção (Carvalho *et al.*, 2003).

As mudanças do início da década de 90, com a abertura da economia, liberação de preços e o plano de estabilização, trouxeram modificações importantes para toda a cadeia agroindustrial do leite, aumentando os investimentos no setor. O novo cenário foi reforçado com a implementação do Plano Real em 1994, aumentando o mercado consumidor e viabilizando aumentos de produção (Carvalho *et al.*, 2003).

Uma das mais significativas mudanças ocorrida no mercado de lácteos trata da importância assumida pelos supermercados como pontos de distribuição, a partir, principalmente, da entrada do leite esterilizado comercialmente no mercado, que veio atender às exigências de comodidade e conveniência do consumidor, cada vez mais consciente de seus direitos (Moruzzi e Carvalho, 2010).

O último trimestre do ano de 2009 foi marcado por uma recuperação significativa dos preços no mercado internacional. Com os primeiros sinais de recuperação da economia mundial, a demanda firme por lácteos e a produção restrita nos principais países produtores sustentou essa elevação de preços, alcançando cotações não vistas há mais de 12 meses. Na Europa, o leite em pó integral chegou a US\$ 4.000/tonelada em dezembro daquele ano. O valor médio pago ao produtor em 2009 (R\$ 0,667/litro) ficou 4,0% abaixo em relação ao valor médio de 2008, R\$ 0,694 (ambos valores corrigidos pelo efeito da inflação) (Moruzzi e Carvalho, 2010).

O mercado para o leite e derivados tem condições de expansão, apesar da forte competição com outras bebidas, como refrigerantes, sucos de frutas e de soja. Este crescimento pode ser estimulado a partir de uma atuação conjunta dos diversos segmentos da cadeia produtiva para incentivar o consumidor, mostrando as qualidades do produto. Sem uma ação objetiva para promovê-lo, uma eventual expansão pode se dar apenas em nível suficiente para satisfazer o crescimento vegetativo da população. O aumento do mercado com vistas ao mercado externo exigirá esforços também para melhorar a qualidade do produto (Silva, 2008).

Estes dados econômicos e mercadológicos com relação à produção de leite e seus derivados mostram como são relevantes e justificáveis os investimentos na pesquisa e estudo do leite como matéria-prima e também produto de consumo, além de seus derivados.

A gordura é o principal componente nutricional do leite e de concentração mais variável dependendo da ração do animal, da alimentação a que este é submetido, do clima da região em que é criado. Sua gordura é composta principalmente de triacilgliceróis, que compõem aproximadamente 98% da gordura do leite (Simionato, 2008).

Nutricionalmente, os ácidos graxos saturados são apontados como indutores do aumento dos níveis de triglicerídios e colesterol no sangue humano. Já os mono e poliinsaturados, causam diminuição desses níveis (Mazier e Jones, 1997). Grummer (1991) afirma que a gordura do leite nutricionalmente ideal deveria conter 10% de ácidos graxos poliinsaturados, 8% de ácidos graxos saturados e 82% de ácidos graxos monoinsaturados. Porém, a gordura normalmente encontrada no leite é diferente da recomendada por Grummer (1991), apresentando a seguinte composição: 5% de ácidos graxos poliinsaturados sendo 4% de ácido linoleico (18:2n-6) e 1% de ácido alfa-linolênico (18:3n-3), 70% de ácidos graxos saturados e 25% de ácidos graxos monoinsaturados. Um balanço ideal seria de mais ou menos 10% de PUFA, 82% de monoinsaturados e 8% de saturados (Kennelly, 1996).

Até hoje não foi definida uma quantidade padrão de ácidos graxos insaturados que deva ser consumida pelo homem. Existem várias divergências

entre os autores, inclusive sobre a relação ideal de ingestão entre ácidos graxos saturados e insaturados (Simopoulos *et al.*,1991).

Gerster (1997) sugere a ingestão diária de ácido eicosapentaenóico e ácido docosahexaenóico (EPA – 20:5n-3 + DHA – 22:6n-3) de 1,25g, Kris Etherton *et al.*(2000) sugerem 0,65g. O Department of Health (1994) recomenda 0,2g de AGPI n-3 de cadeia longa para a prevenção de doenças cardiovasculares e inflamatórias e valor máximo de 4 de consumo com relação à razão n-6/n-3. Para esta relação Simopoulos *et al.*(1991) indica valores entre 5 e 10. Também, o Department of Health and Social Security (1984) da Inglaterra sugere que uma dieta que apresente a razão de AGPI/AGS inferior a 0,45 é pouco saudável, principalmente com relação a doenças cardíacas. GALLI e SIMOPOULOS (1991) falam da ingestão de 0,8g a 1,1g de LNA, um precursor dos demais ácidos da família n-3, mesmo pela baixa taxa de conversão deste ácido e, AGPI n-3 de cadeia longa, principalmente EPA e DHA (LAYNE *et al.*,1996). Sugano e Hirahara (2000) apresentam recomendações da razão de n-6/n-3 de várias organizações e estas variam de 4:1 a 10:1.

A forma mais utilizada de analisar ácidos graxos em alimentos é a Cromatografia a Gás. Porém, anteriormente, é necessário o procedimento da derivatização clássica que consiste na conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos de ácidos graxos a fim de que estes se tornem mais voláteis frente às altas temperaturas a que serão submetidos no método de cromatografia a gás. Além disso, o uso de padrões internos de concentração conhecida para fazer a quantificação em massa de cada substância vem sendo bastante utilizado.

Muitas pesquisas têm sido feitas na atualidade com leite e seus derivados. Existem estudos sobre a interferência da alimentação dada aos animais na composição química e produção do leite, estudo da influência dos processos térmicos utilizados para conservação de leite e seus derivados nas propriedades nutricionais e sensoriais. Porém, até o momento, não existe um estudo comparando o perfil de ácidos graxos de leites UHT (longa vida) entre produtores de várias regiões, várias marcas e entre os tipos de UHT integral, semidesnatado e desnatado. Com relação ao leite desnatado, é sabido que

mesmo sendo feito todo o processo de desengorduramento, ainda sobram uma pequena parte da gordura total que fica “presa” às moléculas de outros componentes nutricionais do leite por afinidade química. Existem estudos feitos sobre a influência da pasteurização na composição em ácidos graxos do leite e seus derivados.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar análises sobre a composição em ácidos graxos dos tipos de leite de vaca UHT consumidos pela população. Para tanto, foi realizada a identificação e quantificação destes componentes pela técnica de cromatografia em fase gasosa e a utilização de parâmetros relacionados aos ácidos graxos saturados e insaturados e ômega 3 e 6, muito discutidos na literatura internacional.

## ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

CARVALHO, L.A., NOVAES, L.P., GOMES, A.T., MIRANDA, J.E.C., RIBEIRO, A.C.L. **Mercado de Leite e de Derivados**. EMBRAPA Gado de Leite, 2003, disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>> *Acessado em 14/09/2010*

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY REPORT ON HEALTH AND SOCIAL SUBJECTS: n° 28. **Diet and Cardiovascular Disease** HMSO, London, 1984. *Apud: Meat Science*, v.42, p443-456, 1996.

DEPARTMENT OF HEALTH. **Report on Health and Social Subjects, n.46. Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease**. HMSO, London, n.46, 178p., 1994.

GALLI, C.; SIMOPOULOS, A.P.; **Dietary  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 fatty acids: biological effects and nutritional essentiality**. Plenum Press, New York, pp.391-402, 1989. *Apud: Am. J. of Clin. Nut.*, v.54, p. 438-463, 1991.

GERSTER, H. **Can adults adequately convert alfa-linolenic (18:n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)?** *Int. J. Vit. Nutr. Res.* v.68, p.159-173, 1997.

GRUMMER, R. R. **Effect of feed on the composition of milk fat**. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 74, n. 9, p. 3244-3257, Sept. 1991.

KENNELLY, J.J. **The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds.** *Anim. Feed Sc. and Tech.*, v.60, p.137-152, 1996.

KRIS ETHELTON, P.M.; TAYLOR, D.S.; YU-POT, S.; *et al.* **Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the USA.** *Am. J. Clin. Nutr.*, v.71, p.179s – 188s, 2000.

LAYNE, K.S. *et al.* **Normal Subjects consuming physiological levels of 18:3 (n-3) and 20:5 (n-3) from flaxseed or fish oils have characteristic differences in plasma lipid and lipoprotein fatty acids levels.** *J. Nutr.*, v.126, p. 2130-40, 1996.

MAZIER, P. M. J.; JONES, P. J. H. **Diet fat saturation and feeding state modulate rates of cholesterol synthesis in normolipidemic men.** *J. Nutr.*, Bethesda, v. 127, n. 2, p. 332-340, Feb. 1997.

MORUZZI, M.M. & CARVALHO, M.P., **Mercado Lácteo: primeiros sinais de 2010.** Janeiro de 2010. Disponível e <<http://www.milkpoint.com.br>> *Acessado em 22/09/2010*

SILVA, R.O.P. **Evolução das Características do Mercado de Leite.** *Análises e Indicadores do Agronegócio.* v. 3, n. 10, p. 1-4, 2008.

SIMIONATO, J.I. **Composição Química e Quantificação de Ácidos Graxos com Ênfase ao Ácido Linoléico Conjugado (CLA) em Leite e Derivados,** 2008. 115f. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

SIMOPOULOS, A.P., **Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development.** *Am. J. Clin. Nutr.*, v.54, p.438-463, 1991.

SUGANO, M. e HIRAHARA, F. **Polyunsaturated Fatty Acids in the Food Chain in Japan.** *Am. J. Clin. Nutr.*, v.71 (suppl.) p.1895 – 1965, 2000.



## **CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **ASPECTOS GERAIS E VISÕES MERCADOLÓGICAS DO CONSUMO DE LEITE E TÉCNICAS DE IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM LEITE.**

**Natalia Andrade Zancan, Marcelo Alexandre Prado**

**Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de  
Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), CP 6121,  
13083-862, Campinas, SP, Brasil**

# 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 1.1. Leite – Definição e Conceitos Básicos

Segundo a Instrução Normativa nº 51 de 18/09/2002 (Brasil, 2002), “entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda”. É um líquido esbranquiçado, opaco e nutritivo produzido pelas glândulas mamárias dos mamíferos.

O líquido é produzido pelas células secretoras das glândulas mamárias. A secreção láctea de uma fêmea dias antes e depois do parto se chama colostro. Em grande parte das espécies, existem duas glândulas, ou dois conjuntos de glândulas, uma em cada mamilo (localizado na parte frontal superior nos seres humanos e na parte ventral dos quadrúpedes). A principal função do leite é nutrir os filhotes até que sejam capazes de digerir outros alimentos. Além disso, cumpre as funções de proteger o trato gastrointestinal das crias contra os antígenos, toxinas e inflamações e contribui para a saúde metabólica, regulando os processos de obtenção de energia, em especial o metabolismo da glicose e insulina (German, 2004).

É o único fluido que as crias dos mamíferos ingerem até o desmame. O leite de animais domesticados forma parte da alimentação humana adulta na maioria das civilizações. O mais consumido é o leite de vaca, mas também existe o consumo de leite de ovelha, de cabra, égua, camela, búfala e outros animais. O homem é o único animal que continua a consumir leite depois da idade adulta (Nutrición e Saúde – Lácteos, 2010).

O leite, além de ser a base produtiva de muitos laticínios, como queijos, iogurtes, manteiga, é muito usado também nas indústrias de química, farmacêutica e outros setores alimentícios na produção de caseína, lactose, leite em pó, soro de leite, leite condensado, cosméticos e outros produtos. O leite de mamíferos marinhos como o das baleias, por exemplo, é muito mais rico em gorduras e nutrientes do que o leite dos mamíferos terrestres (Alais, 1971).

## 1.2. *Histórico do Consumo de Leite*

O consumo humano do leite de origem animal começou há 11.000 anos com a domesticação do gado durante o período chamado “ótimo climático”. Este processo ocorreu no Oriente Médio durante a Revolução Neolítica. O primeiro animal a ser domesticado foi a vaca e em seguida a cabra, aproximadamente na mesma época. Depois, entre 9000 e 8000 a.C., ocorreu a domesticação da ovelha (Pereira *et al.*, 2006).

Durante a Antiguidade e a Idade Média, o leite era muito difícil de ser conservado e, portanto, era consumido fresco e em forma de queijo. Com a Revolução Industrial na Europa, por volta de 1830, trouxe a possibilidade de transportar o leite fresco de zonas rurais para as grandes cidades, graças a melhorias no sistema de transportes. Com o tempo, apareceram novos instrumentos na indústria de processamento do leite, entre os quais o mais conhecido é a pasteurização, criada em 1864 por Louis Pasteur e depois sugerida para ser usada no leite em 1886 pelo químico microbiologista alemão Franz Von Soxhlet. Estas previsões tornaram o leite um alimento mais saudável, com prazo de validade definido, conservação previsível e processamento mais higiênico (Pereira *et al.*, 2006).

## 1.3. *Comportamento da Gordura no Leite*

A gordura do leite se apresenta na forma de glóbulos envolvidos por uma membrana fosfolipídica correspondendo a uma mistura de lipídios, principalmente por triacilgliceróis que compõem aproximadamente 98% do total da gordura do leite, seguido por diacilgliceróis (0,25-0,48%), monoacilgliceróis (0,02-0,4%), glicolipídios (0,006%) e ácidos graxos livres (0,1-0,4%), fosfolipídios e esteróis (Seçkin *et al.*, 2005).

A gordura presente no leite e produtos lácteos é uma das mais complexas existentes, tendo propriedades nutricionais e físicas únicas. Esta gordura pode conter acima de 400 diferentes ácidos graxos, sendo cerca de 30 os principais. Estes diferem quanto ao comprimento da cadeia carbônica, que pode variar de 4 a 24 átomos de carbono. As cadeias possuem diferentes posições das insaturações, configuração posicional, geométrica e grupos

funcionais. O leite de vaca, individualmente, tende a ser de composição constante para a maioria dos componentes, mas existem flutuações periódicas notadamente de gordura, e aparecem mudanças características no decurso da lactação (Cobuci *et al.*, 2000).

Com o declínio normal em rendimento, a porcentagem de gordura eleva-se, e a de lactose declina ligeiramente, e para a manutenção das relações osmóticas, seu declínio é compensado por um aumento em cloretos. Estas mesmas mudanças tendem a ocorrer quando o rendimento está sujeito a uma queda anormal em consequência de doença ou outros fatores perturbadores, como a nutrição e condições ambientais (Maynard *et al.*, 1984).

Sabe-se que condições climáticas exercem influência na produção de leite. O frio vindo repentinamente diminui a produção tanto do leite como em gordura. Com o frio constante, as vacas produzirão mais ou menos o normal se forem bem alimentadas, apenas a gordura será um pouco reduzida. Em situações de calor intenso os animais diminuem a ingestão de alimento o que também prejudica a produção de leite (Schmidt, 1974).

Uma alimentação balanceada contribui para uma produção de leite mais nutritivo, porém, estudos indicam que aumentando a composição da gordura na alimentação não ocorre um aumento na gordura do leite, ou seja, o excesso não é aproveitado. Por isso a importância de uma alimentação equilibrada (Collomb *et al.*, 2004; González e Campos, 2003).

Os ácidos graxos, o glicerol e outros intermediários são sintetizados no citosol e a biossíntese de triglicerídios ocorre no retículo endoplasmático das células epiteliais mamárias. A maioria dos lipídios está na forma de triacilglicerol (3 ácidos graxos +1 Glicerol) que têm origem no fígado e atingem a glândula mamária, ou são sintetizados na própria glândula mamária. As glândulas mamárias dos ruminantes necessitam do acetato sangüíneo e do beta-hidroxibutirato, que são ácidos graxos livres originados na digestão, como fontes de Carbono para a síntese de ácidos graxos (Simionato, 2008).

Há três principais fontes de ácidos graxos. A primeira e mais importante em ruminantes é a síntese a partir do acetato e  $\beta$ -hidroxibutirato transportados

desde o rúmen. O acetato via malonil-CoA, contribui para todos os ácidos de cadeia curta e em parte para os ácidos de até 16 átomos de Carbono em ruminantes. A segunda fonte são os triglicerídeos presentes nos quilomícrons circulantes e lipoproteínas de baixa densidade. Esses ácidos graxos com mais de 14 carbonos de comprimento são originários tanto da dieta como da microbiota do rúmen e são principalmente ácidos palmítico (16:0) e esteárico (18:0), oleico (18:1n-9) e linoleico (18:2n-6). Mais da metade dos ácidos graxos no leite da vaca deriva diretamente do sangue. A terceira fonte é a acetil-CoA citoplasmática da glicólise e do ciclo do ácido cítrico (Simionato, 2008).

#### *1.4. Definição do Leite quanto ao seu Aspecto e Tipos de Leite quanto ao processamento, Conteúdo de Matéria Graxa e Nível Microbiológico*

O leite pode ser definido de acordo com os seguintes aspectos:

- **Biológico:** substância secretada pela fêmea dos mamíferos com a finalidade de nutrir suas crias;
- **Legal:** produto de ordenha de um mamífero sadio que não representa perigo para o ser humano;
- **Físico-químico:** sistema em equilíbrio formado por três sistemas dispersos: solução, emulsão e suspensão;
- **Zootécnico:** produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas.

Com relação ao tipo de processamento ao qual o leite é submetido, anteriormente ao seu envasamento, o leite sofre diferentes processos térmicos cujos mais importantes são:

- **Desnatado ou semi desnatado:** é um processo físico que consiste na separação por centrifugação da matéria gorda do restante do leite, separando de um lado a nata e o creme e de outro o leite desnatado ou semi desnatado;

- Homogeneização: é um processo físico destinado a romper o glóbulo de gordura em suspensão, em minúsculas partículas de gordura. Desta maneira, a gordura não tenderá a subir para a superfície do leite e permanecerá dispersa por todo o líquido;

- Pasteurização: é um processo térmico destinado a provocar a eliminação de organismos patogénos ou inócuos. Uma das técnicas de pasteurização moderna consiste em aquecer o leite a 80°C durante um tempo de 30 segundos. Este aquecimento deve ser seguido de um rápido esfriamento a 4°C. Esta pasteurização garante a destruição de microorganismos e de todos os germes e não altera sensivelmente o sabor;

- Evaporação: é um processo de redução de água de sua composição e resulta em um leite concentrado e rico em nutrientes;

- UHT (Ultra High Temperature): é um processo térmico que consiste em expor o leite durante um curto espaço de tempo a uma temperatura que oscila entre 135°C e 140°C seguido de um rápido resfriamento. Isto se faz de uma forma contínua, em um recipiente fechado que garanta que o produto não se contamine. Igualmente ao processo anterior, este processo não altera notavelmente o sabor do leite (ABIQ, 2010).

Também existe uma subdivisão do leite com relação ao seu conteúdo de matéria gorda, a qual segue abaixo:

- Leite integral: contém no mínimo um teor de gordura de 3%;
- Leite semidesnatado: contém teor de gordura de 2,9 a 0,6%;
- Leite desnatado: contém no máximo um teor de gordura de 0,5%.

Outra classificação do leite é quanto ao nível microbiológico deste produto:

- Leite Cru: leite sem tratamento térmico, obtido e comercializado sem controle sanitário. Quando é vendido diretamente ao consumidor é chamado de leite da carrocinha ou leite informal. Não deve ser consumido ou comercializado, pois é muito susceptível a contaminação;

- Leite Pasteurizado: leite líquido que foi submetido ao tratamento térmico. Consiste no aquecimento do leite à temperatura de 72 a 75°C por 15 a 20 segundos, e refrigeração à temperatura entre 2 e 5°C sendo envasado em seguida;
- Leite Longa Vida, Ultra pasteurizado ou UHT (Ultra High Temperature): é o leite líquido homogeneizado, que foi submetido durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130 e 150° C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo; imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C, e envasado assepticamente;
- Leite tipo A: obtido da ordenha completa e ininterrupta, com teor de gordura integral, padronizado, semidesnatado ou desnatado, produzido, beneficiado (pasteurizado) e envasado em estabelecimento denominado Granja Leiteira. O Regulamento técnico exige: teste qualitativo negativo para fosfatase alcalina, teste positivo para peroxidase e enumeração de coliformes a 30/35° menor que 0,3 NMP/mL;
- Leite tipo B: obtido da ordenha completa e ininterrupta e refrigerado na propriedade rural leiteira a 4°C. É transportado para o estabelecimento industrial e submetido à pasteurização. O teor de gordura pode ser integral, padronizado, semidesnatado ou desnatado. O Regulamento técnico exige: teste qualitativo negativo para fosfatase alcalina, teste positivo para peroxidase e enumeração de coliformes a 30/35° menor que 3 NMP/mL;
- Leite tipo C: obtido da ordenha completa e ininterrupta e que não foi resfriado na propriedade rural leiteira e entregue a indústria até as 10h00min horas do dia da sua obtenção. É transportado para o estabelecimento industrial e submetido à pasteurização. O teor de gordura pode ser integral, padronizado, semidesnatado ou desnatado;
- Leite Esterilizado: pré-aquecido a 70°C em fluxo contínuo, embalado e em seguida esterilizado na própria embalagem à temperatura de 109 a 120°C, de 20 a 40 minutos, sofrendo resfriamento numa temperatura de 20 a 35°C, pode ser integral ou desnatado.

Nas usinas de beneficiamento e laticínios, são feitas análises do leite antes de sua descarga para verificar se cumprem algumas características ótimas para seu consumo. Entre as análises que sofre, estão os testes físico – químicos para verificar a composição em gordura e extrato seco, além de outros parâmetros para detectar possíveis fraudes com água, testes organolépticos para detectar sabores estranhos e, finalmente, os testes bacteriológicos que detectam bactérias patogênicas e a presença de antibióticos. Os antibióticos passam para o leite de vacas em tratamento veterinário e, por sua vez, são passados ao consumidor deste leite. O leite que não cumpre com os requisitos de qualidade deve ser descartado pelo produtor.

Após ser comprovado seu estado ótimo, o leite é armazenado em tanques e depois é pasteurizado e envasado para ser enviado ao mercado consumidor. Porém, anteriormente ao seu envasamento, o leite sofre diferentes processos térmicos de acordo com seu destino que são alguns dos mais importantes (ABIQ, 2010).

Além disso, recentemente, tem ocorrido o desenvolvimento de novas variedades de leite para atender as necessidades nutricionais dos consumidores que porventura não se alimentem adequadamente ou atingir as pessoas que possuem algum problema metabólico e sejam impedidas de consumir o leite convencional. Normalmente, são conhecidos como leite funcional, o qual, além de fornecer os nutrientes para o organismo, contribui para melhorar a saúde. São enriquecidos com substâncias capazes de reduzir os riscos de doenças e alterar as funções metabólicas do corpo humano. (ABIQ, 2010).

O leite mais usado nos dias de hoje para produzir laticínios é o de vaca, devido às suas propriedades, quantidades obtidas, sabor agradável, facilidade de digestão e grande variedade de derivados produzidos atualmente. Contudo, não é o único tipo de leite consumido. Também são consumidos os leites de cabra, égua, camela, búfala, entre outros. O consumo de determinados tipos de leite depende da região e tipo de animais disponíveis. Nas regiões Árticas se usa o leite de baleia para consumo, o leite de asna e égua são os menos gordurosos, já o leite de foca é 50% mais gorduroso. Porém, o leite de vaca é o



mais importante para a dieta humana e o que tem mais aplicações industriais (Dergal, 2004).

### 1.5. Aspectos fisiológicos e nutricionais dos Ácidos Graxos:

De acordo com dados históricos, os lipídeos sempre fizeram parte da dieta dos humanos. Estima-se que uma típica dieta do período Paleolítico era composta de 50% de alimentos de origem animal e 50% de alimentos de origem vegetal. Em períodos mais recentes, após a Revolução Industrial no século XVII, o desenvolvimento da agroindústria e de técnicas de processamento de alimentos surgiu novos produtos alimentares como farinhas e óleos vegetais (Liechtenstein, 1999).

Os ácidos graxos monoinsaturados são mais resistentes ao estresse oxidativo e uma dieta rica nestes faz com que as partículas de LDL - colesterol fiquem enriquecidas com eles, tornando-as menos suscetíveis à oxidação (Costa e Borém, 2003; Rique *et al.*, 2002).

Pesquisas indicam que o consumo moderado de alimentos ricos em ácidos graxos insaturados diminui o nível de colesterol sanguíneo, diminuindo a possibilidade de surgimento de doenças cardiovasculares (Costa e Borém, 2003; Rique *et al.*, 2002).

Existe também uma classe de ácidos graxos denominada de essenciais. Estes são adquiridos apenas através da alimentação e são poliinsaturados não sintetizados pelas células do organismo. São eles os mais comumente conhecidos como ácido graxo ômega-3 (n-3), encontrado principalmente em óleo de peixe, e o ácido graxo ômega-6 (n-6), cujas principais fontes alimentares são os óleos vegetais (girassol, milho, canola, soja e algodão) (Costa e Borém, 2003).

Os ácidos graxos da família n-6 são representados pelo ácido linoleico (18:2n-6), encontrado mais comumente em plantas oleaginosas. É precursor do Ácido Araquidônico (20:4n-6) que é metabolizado pelo organismo jovem, realizando o alongamento da cadeia carbônica e a dessaturação adequada desta. O organismo dos idosos não faz mais esta transformação, tornando-se

necessário, portanto, suplementação deste ácido graxo (Belda e Pourchet-Campos, 1991).

Os ácidos graxos da família n-3 compreendem o ácido-linolênico (18:3n-3) que gera os ácidos eicosapentaenoicos (EPA - 20:5n-3) e o docosahexaenoico (DHA - 22:6n-3) a partir do alongamento e dessaturação da cadeia carbônica. É bastante encontrado em óleos vegetais, mas sua grande fonte está nos animais marinhos, principalmente peixes, pois se alimentam de fitoplâncton e zooplâncton ricos em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa n-3 (Belda e Pourchet-Campos, 1991).

Apesar da existência de controvérsias, a redução no consumo de lipídeos para no máximo 30% do valor calórico total diário já resulta em benefícios no controle de doenças cardiovasculares. A American Heart Association fez algumas recomendações para o consumo de lipídeos, as quais são: para indivíduos com doenças cardiovasculares preexistentes, consumir entre 25% e 35% de lipídeos, sendo menos de 7% saturados, até 10% poliinsaturados e menos de 200mg de colesterol por dia. Para a população em geral, a recomendação é de consumir menos de 30% de lipídeos, sendo menos de 10% de saturados, até 10% de poliinsaturados e menos de 300mg de colesterol por dia. A contribuição para o aumento do colesterol LDL se dá pelos ácidos graxos saturados, os transisômeros e o colesterol dietético em menor proporção (Curi *et al.*, 2002; Rique *et al.*, 2002).

### 1.6. O Consumo de Ácidos Graxos Poliinsaturados n-3 e n-6:

Devido a descobertas com relação a benefícios à saúde, nos últimos anos, houve um aumento a nível mundial de pesquisas sobre ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) ômega-3 (n-3). Desta forma, houve também um aumento de interesse por parte das indústrias alimentícias e farmacêuticas, as quais suplementam alimentos e desenvolvem formulações contendo concentrados de n-3.

A sociedade industrializada, dos dias de hoje (Ahrens, Blankenhorn, Tsaltas, 1954), é caracterizada por um aumento na ingestão de alimentos energéticos (Barcelli *et al.*, 1985), aumento no consumo de ácidos graxos

saturados, ácidos graxos ômega-6 (n-6) e *trans* e diminuição da ingestão de ácido graxo n-3, redução no consumo de carboidratos complexos e fibras, aumento no consumo de cereais e frutas e diminuição no consumo de hortaliças, proteínas, antioxidantes e cálcio. O aumento neste consumo de ácidos graxos *trans* é prejudicial à saúde, além disso, eles interferem na dessaturação e alongação dos ácidos graxos n-3 e n-6. Este fato provoca uma diminuição ainda maior da disponibilidade para o metabolismo humano de ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenoico (Simopoulos, 2002).

O aumento do consumo de ácidos graxos n-6 nos últimos 100 anos é devido ao desenvolvimento da tecnologia na virada do século que marcou o início da era moderna na indústria de óleos vegetais, na agricultura moderna e com ênfase em grãos para alimentação de animais domésticos (grãos normalmente são ricos em ácidos graxos n-6. A hidrogenação seletiva parcial do óleo de soja reduziu o teor de ácido  $\alpha$ -linolênico (ALA) do óleo e deixou uma alta concentração de ácido linoleico (LA). O conteúdo de ALA em óleo de soja foi reduzido, pois causava muitos problemas organolépticos. Também, atualmente já é bem conhecido que o processo de hidrogenação e, particularmente a formação de ácidos graxos *trans* levou ao aumento da concentração sérica de colesterol (Simopoulos, 2002).

Desde a década de 1950, a investigação sobre os efeitos dos AGPI n-6 na redução do colesterol sérico se sobressaiu sobre a investigação da função deste ácido graxo no metabolismo lipídico (Simopoulos, 2002).

Com relação aos ácidos graxos n-3, o agronegócio contribuiu ainda mais para a sua diminuição nas carcaças dos animais de abate. Os animais selvagens e as aves que se alimentam de plantas selvagens possuem uma carcaça muito magra, com teor de gordura de apenas 3,9% (Ledger, 1968) e contém cerca de cinco vezes mais AGPI por grama do que a que é encontrada em animais domésticos (Crawford, 1968). Além disso, 4% da gordura dos animais selvagens contém EPA. A carne de animais domésticos, porém, contém quantidades muito pequenas ou indetectáveis de ALA porque os

bovinos, por exemplo, são alimentados com grãos ricos em ácidos graxos n-6 e pobre em n-3 (Crawford *et al.*, 1969).

A agricultura moderna com ênfase na produção em larga escala, diminuiu os ácidos graxos n-3 de muitos alimentos. Além das carnes, como citado acima, os vegetais de folhas verdes, ovos e mesmo o peixe contêm hoje menos ácido graxo n-3 do que os selvagens ou de produção doméstica.

Os peixes produzidos pela aquicultura atual contêm menos ácidos graxos n-3 que os peixes dos rios, mares e lagos (Simopoulos, 2002). Da mesma forma, leite e queijos originados de animais que pastam incluem Ácido Araquidônico, EPA e DHA, enquanto que o leite e queijo de animais que se alimentam de grãos não possuem estes componentes (Simopoulos, 1998).

### 1.7. Ácidos Graxos Poliinsaturados n-3 e n-6 e a relação entre eles:

É evidente que a tecnologia alimentar e o agronegócio, através do estímulo econômico dominaram as mudanças no abastecimento alimentar. A partir das quantidades *per capita* de alimentos disponíveis na União Européia para consumo, o montante de EPA é de 50 mg *per capita* / dia e a quantidade de DHA é de 80 mg *per capita* / dia. As duas principais fontes são os peixes e as aves poedeiras (Raper, Cronin, Exler, 1992). Foi definido que a dieta ocidental atual é deficiente em ácidos graxos n-3 com a relação n-6/n-3 de 15-20/1, em vez de 1/1, como é que acontece em animais selvagens e que é recomendável para os seres humanos (Crawford, 1968; Crawford *et al.*, 1969).

Até hoje não foi definida uma quantidade padrão de ácidos graxos insaturados que deva ser consumida pelo homem. Existem várias divergências entre os autores, inclusive sobre a relação ideal de ingestão entre ácidos graxos saturados e insaturados. A seguir, serão citadas algumas delas:

Gerster (1997) sugere a ingestão diária de (EPA + DHA) de 1,25g, Kris Etherton *et al.*(2000) sugerem 0,65g. O Department of Health (1994) recomenda 0,2g de AGPI n-3 de cadeia longa para a prevenção de doenças cardiovasculares e inflamatórias e valor máximo de 4 de consumo com relação à razão n-6/n-3. Para esta relação Simopoulos *et al.*(1991) indica valores entre

5 e 10. Também, o Department of Health and Social Security (1984) da Inglaterra sugere que uma dieta que apresente a razão de AGPI/AGS inferior a 0,45 é pouco saudável, principalmente com relação a doenças cardíacas. Galli e Simopoulos (1991) falam da ingestão de 0,8g a 1,1g de LNA, um precursor dos demais ácidos da família n-3, mesmo pela baixa taxa de conversão deste ácido e, AGPI n-3 de cadeia longa, principalmente EPA e DHA (Layne *et al.*,1996). Sugano e Hirahara (2000) apresentam recomendações da razão de n-6/n-3 de várias organizações e estas variam de 4:1 a 10:1.

Este elevado consumo de ácidos graxos n-6 e baixo de n-3 têm ocorrido nos últimos 100 anos devido ao crescente consumo de óleos vegetais como os de milho, girassol, algodão e soja. Hoje, nas dietas ocidentais a razão n-6/n-3 está estimada em 20:1 a 30:1 distante do ideal de 1:1 a 2:1, segundo Schmidt (1974) e Simopoulos *et al.* (1999). Esta alta razão gerou um desequilíbrio no balanceamento de ácidos graxos no organismo humano e, acredita-se que prejudicou as funções biológicas do organismo humano sendo responsável por hipertensão, desordens do sistema imunológico e inflamações, depressão e outros distúrbios nas funções neurológicas do homem (Sugano e Hirahara, 2000).

### 1.8. Ácidos Graxos e sua relação com a saúde:

Existe uma exceção que são os ácidos graxos poliinsaturados *trans*. O consumo excessivo de alimentos contendo este ácido graxo é prejudicial à saúde, pois contribui para o aumento do colesterol sérico sanguíneo e a incidência de problemas cardiovasculares.

Esta gordura consumida em excesso, pode ser tão ou mais prejudicial que os ácidos graxos saturados, com relação à elevação dos níveis de colesterol sanguíneo e a incidência de doenças cardiovasculares.

Enquanto os ácidos graxos saturados de origem animal apresentam fatores dietéticos de risco para o desenvolvimento de doenças coronarianas aterosclerótica, os ácidos graxos monoinsaturados, principalmente o ácido oléico encontrado em altas concentrações no azeite de oliva, mostraram efeito protetor evidente (Navarro *et al.*1992).

O ácido oleico é um ácido graxo monoinsaturado que foi, por muito tempo, considerado fundamental por suas propriedades benéficas na redução da oxidação do LDL - colesterol, a forma aterogênica (Angelis, 2001).

Estudos clínicos citados por indicam que a substituição de ácidos graxos saturados por ácidos graxos monoinsaturados produz uma redução do colesterol sérico total e do LDL - colesterol sem reduzir o HDL - colesterol. Existem provas de que o ácido oleico reduz o HDL - colesterol com menor frequência do que reduz o ácido linoleico. Análises *in vitro* mostraram que o ácido oleico protege contra a modificação oxidativa das lipoproteínas, as LDL oxidadas aceleram a reprodução celular induzindo dano arterial, entretanto, os ácidos monoinsaturados podem proteger e diminuir a LDL - colesterol (Crawford *et al.*, 1999).

Além dos óleos vegetais possuem ácidos graxos essenciais, como o ácido linoleico e ácido linolênico, que possuem também funções de diminuir triacilgliceróis plasmáticos e as frações do colesterol, principalmente LDL - colesterol, o Canadá e os Estados Unidos adotam uma recomendação em relação a esses ácidos graxos. No Canadá a recomendação é de uma proporção de 4:1 e, nos Estados Unidos, recomenda-se à proporção de 10:1 em relação à proporção de ácidos graxos linoleico e linolênico (Lima *et al.*, 2000; Pereira, 2004).

As células dos mamíferos não são capazes de converter ômega-6 a ômega-3, porque lhes falta a ômega-3 desaturase, que é a enzima de conversão. LA e ALA e os derivados das suas longas cadeias são importantes componentes das membranas celulares tanto de animais como de vegetais. Estas duas classes de interligação ALE não são verticais, são metabolicamente e funcionalmente distintas e, muitas vezes, têm importantes funções fisiológicas. O equilíbrio destes ácidos graxos é importante para uma saúde boa e normal (Simopoulos, 2002).

No homem, à medida que envelhece, o organismo pode perder a capacidade de transformar um precursor em seus ácidos graxos subseqüentes das famílias. Especificamente, a idade afeta a atividade da enzima  $\Delta 6$ -desaturase e a insuficiência desta enzima causa uma deficiência de ácidos

graxos em ambas as famílias n-3 e n-6. Baixas concentrações ou ausência desses componentes aceleram o processo de envelhecimento e aumentam a probabilidade de desenvolvimento de várias doenças degenerativas, inclusive doenças cardíacas (Ewin, 1997). Desta forma, um ácido graxo poderia ser considerado essencial nas etapas da vida em que não pode mais ser sintetizado a partir de seus precursores. Porém, nos indivíduos que são capazes de sintetizá-lo a partir dos precursores, ele não é mais considerado essencial (Visentainer e Franco, 2006).

### *1.9. Os Ácidos Graxos na Alimentação e Fisiologia dos Animais Ruminantes e a Importância da Ingestão de Ácidos Graxos para o Ser Humano:*

Está estabelecido claramente que alguns ácidos graxos poliinsaturados derivados do ácido  $\alpha$ -linolênico (LCPUFA n-3), ou seja, os ácidos eicosapentaenoicos são necessários no desenvolvimento do ser humano. Estes ácidos graxos podem vir diretamente da alimentação (produtos ricos em LCPUFA n-3) como também podem ser formado a partir de precursores da mesma série metabólica presente na dieta. A necessidade nutricional e a importância metabólica de um ou outro dos precursores da série de n-3 LCPUFA pré - formados da ingestão de n-3 dependerá da etapa de desenvolvimento que o indivíduo se encontra, do estado nutricional, das necessidades fisiológicas destes ácidos graxos e das exigências específicas por parte de certos tecidos. A função biológica do LCPUFA n-3 está relativamente bem definida especialmente para os ácidos graxos mais característicos, o EPA e o DHA (Modesto *et al.*, 2002).

O EPA associa-se principalmente com a proteção da saúde cardiovascular. A sua presença nos tecidos permite regular a atividade de mecanismos envolvidos com o metabolismo dos lipídios plasmáticos, com a agregação de plaquetas e com o processo da coagulação sanguínea. Deste ponto de vista, as exigências são maiores no indivíduo adulto e especialmente no desenvolvimento de doenças do aparelho circulatório. O DHA é considerado fundamental na formação do tecido nervoso e visual no qual sua exigência associa-se principalmente tanto na primeira fase de desenvolvimento tanto intra

como extra-uterino e com as exigências da mãe durante a gestação e na etapa da lactação (Crawford *et al.*, 1999).

Os tecidos têm a capacidade de biossintetizar LCPUFA n-3 no homem (gônadas, fígado e, em menor escala, tecido adiposo e cérebro), eles fazem isto a partir do precursor ácido  $\alpha$ -linolênico. Este ácido graxo essencial atinge as células através da contribuição pela dieta e pelo transporte nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Valenzuela, 2000).

Embora os ácidos graxos EPA e DHA tenham uma estrutura semelhante, ambos LCPUFA n-3 desempenham funções metabólicas e fisiológicas muito diferentes. O EPA relaciona-se principalmente com a proteção da saúde cardiovascular no adulto e o DHA é considerado fundamental para o desenvolvimento do cérebro e do sistema visual, associando a saúde materno-infantil. Os principais efeitos dos PCPUFA n-3, EPA, na proteção da saúde cardiovascular seria:

- Competir com o ácido araquidônico na formação de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos;
- Produzir inibição da agregação plaquetária (efeito antitrombótico) e estimulação da vasodilatação;
- Produzir efeitos antiinflamatórios e reduzir a quimiotaxia dos leucócitos;
- Inibir a síntese de triglicérides a nível hepático e inibir a secreção de VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa);
- Favorecer a secreção hepática de VLDL de menor tamanho que se transforma em LDL (lipoproteínas de baixa densidade) de maior tamanho consideradas não aterogênicas;
- Estimula o transporte reverso de colesterol, favorece sua captação pelo fígado e sua eliminação pela via biliar (Modesto *et al.*, 2002).



O ácido linoleico conjugado (CLA) é o ácido graxo insaturado que está presente em altas concentrações na gordura do leite (Parodi, 1994). Mais de 80% do CLA presente nos produtos lácteos está na forma de isômeros cis-9 e trans-11, que são as formas biologicamente ativas do CLA (Chin *et al.*, 1992).

Os ácidos graxos com insaturação conjugada não são normalmente constituintes da dieta de rebanhos leiteiros. O CLA é formado no rúmen como primeiro intermediário da biohidrogenação do ácido linoleico pela enzima ácido linoleico isomerase, proveniente da bactéria ruminal *Butyvirbio fibrisolvens*, que isomeriza o ácido linoléico preferencialmente para as formas cis-9 e trans-11 (Kepler, *et al.*, 1966; Parodi, 1997).

O leite com alto teor de CLA tem propriedades anticarcinogênica e hipocolesterolêmica, ambas benéficas à saúde do ser humano (Kelly e Bauman, 1996). Ip *et al.*, (1991) em seus estudos estimou que a ingestão de CLA por uma pessoa de 70 kg deveria ser de uma quantidade de aproximadamente 3,5 gramas de CLA, valor maior que a média estimada de 1,0 gramas de consumo diário de uma pessoa adulta nos Estados Unidos.

A adição de ácidos graxos insaturados na dieta de vacas lactantes pode aumentar de forma natural o CLA e diminuir o teor de gordura do leite, melhorando a imagem dos produtos lácteos junto ao consumidor, uma vez que as pessoas, atualmente, estão optando por alimentos com menor teor de gordura e sem aditivos. Os produtos à base de soja possuem grande percentual de ácidos graxos insaturados, principalmente o óleo de soja que possuem em média 75% de insaturação. Entretanto, se a fonte de gordura adicionada à ração for proveniente de sementes oleaginosas (soja), que é uma gordura protegida, pois seus lipídios estão presos na matriz protéica da semente, podendo minimizar os efeitos dos lipídios sobre a fermentação ruminal pelo menor contato dos lipídios com os microorganismos (Byers e Schelling, 1989).

Normalmente, as dietas de ruminantes têm cerca de 3% de lipídios. Uma suplementação de gordura deve levar em consideração a quantidade de fonte de lipídios para que haja um efeito mínimo na fermentação ruminal, já que as gorduras insaturadas possuem efeitos inibitórios sobre os microorganismos que

degradam celulose no rúmen. Alguns pesquisadores afirmam que teores maiores que 7% de lipídios na ração interferem negativamente na fermentação ruminal (Palmquist, 1989).

Existem muitas pesquisas sendo feitas sobre os efeitos da gordura dietética sobre a composição da gordura do leite, mas recentemente estão sendo desenvolvidas pesquisas verificando o efeito de fontes de lipídios sobre o aparecimento de ácido linoleico conjugado (Parodi, 1994; Kelly e Bauman, 1996).

### *1.10. As Controvérsias do Consumo de Leite*

O leite é um alimento que está presente na maioria das dietas ocidentais e sempre foi considerado um alimento saudável e completo para todas as idades. A indústria de laticínios, juntamente com os profissionais de saúde e nutrição, propagaram o benefício de consumo de lácteos devido à sua riqueza em cálcio, proteínas, vitaminas A, B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>.

Contudo, há alguns anos, existem controvérsias na comunidade médica quanto aos benefícios do leite. Vários especialistas são contra o consumo de leite de vaca e afirmam que este pode ser a causa de várias doenças e alergias como otites, dermatites, aumento de gordura abdominal, aumento na formação de muco, gastrite, refluxo, constipação intestinal, entre outros problemas de saúde (Ribeiro, 2008).

Há estudos que afirmam que o leite de vaca não é um alimento adequado para o consumo humano. A explicação dada é que o homem é o único mamífero que continua consumindo leite após a idade adulta e, por isso, desenvolve alguns problemas de saúde. Após a Revolução Agrícola, há cerca de 10.000 anos atrás, é que o consumo de laticínios tornou-se possível devido à domesticação dos animais. Desta forma, o leite é um alimento recente na alimentação humana, cujo genoma não sofreu alterações nos últimos 10.000 anos. Este fato explica a existência de intolerância à lactose de 70% da população adulta mundial, problema que gera efeitos adversos de ordem gastrointestinal como flatulência, diarreia, dor e desconforto abdominal (Bastos, 2008).

Outro problema atribuído aos laticínios, como leite, iogurte e queijo fresco é que, apesar de possuírem um índice glicêmico baixo (não provocam aumento significativo de glicemia), aumentam muito a liberação de insulina pelo pâncreas, o que pode causar resistência à insulina, que está na origem de vários problemas de saúde como síndrome metabólica (incluindo Diabetes Tipo 2, hipertensão, diminuição de triglicérides, diminuição do colesterol, do HDL e aumento de gordura abdominal), ovário policístico, alguns tipos de câncer (próstata, mama e cólon), miopia e acne (Bastos, 2008).

Bastos (2008) menciona que o mais grave talvez seja o recente descobrimento da beta-celulina (BTC). A BTC é um fator de crescimento presente no leite bovino, que sobrevive à pasteurização e ao processo digestivo, é capaz de entrar na circulação sanguínea através do receptor de EGF (Fator de Crescimento Epidérmico) existente nas células epiteliais do intestino e com o qual tem maior afinidade que o próprio EGF. Ao entrar na circulação sistêmica, pode ligar-se ao receptor de EGF (EGR-F) que existe em diversas células epiteliais e aumentar a sinalização deste receptor. (Ribeiro, 2008).

No caso de diversos cânceres (mama, cólon, próstata, ovários, pulmões, pâncreas, bexiga, estômago, cabeça e pescoço), sabe-se que há um aumento do número de EGF-R e da sinalização dos mesmos e que existem já ensaios clínicos de fase II para fármacos que bloqueiam o receptor e a sua sinalização. Apesar de ainda não terem sido realizados estudos sobre leite, BTC e câncer em humanos, é já conhecido o mecanismo e existem estudos epidemiológicos que ligam o consumo de laticínios a alguns destes cânceres (próstata, ovários, pulmões, estômago e pâncreas). O BTC também é responsável por alterações de receptores referidos (EGF-R) no córtex pré-frontal e no estriato, o que afeta os neurônios onde se produz a dopamina e existem estudos epidemiológicos que associam o consumo de leite a esta doença (Ribeiro, 2008).

Outro problema de saúde atribuído ao leite é a alergia, ligada à intolerância à lactose, que pode produzir reações adversas em pessoas que não produzem ou produzem pouca lactose. Esta intolerância é comum e pode

causar transtornos funcionais gastrintestinais como náuseas, diarreia e cólicas. A maior relação dos derivados de leite com as alergias tardias deve-se pela não digestão da beta – lactoglobulina e da caseína pelo organismo. Os principais sintomas desta síndrome são azia, gastrite, gases, alergias (Bastos, 2008).

Porém, estes sintomas não se manifestam logo após o consumo de leite, podem ocorrer horas ou dias mais tarde. Para detectar a hipersensibilidade ao leite, é necessário fazer exames de sangue e dietas de exclusão (Bastos, 2008).

Outra teoria defendida contra o consumo de leite é que as células de defesa atacam a beta-lactoglobulina como se fosse um vírus, bactéria ou fungo, iniciando a reação alérgica e causando as otites, dermatites, sinusites, rinites, amidalites e bronquites. Esta alergia gera inflamação da mucosa do ouvido, nariz, garganta e pulmão. Mais tarde, podem aparecer problemas mais graves como eczemas, hiperatividade, enxaquecas, TPM e até depressão.

Em contrapartida, existem os defensores do consumo deste alimento. A justificativa é que o leite e seus derivados são os únicos alimentos capazes de fornecer cálcio suficiente para o ser humano e, quanto mais cálcio for ingerido, melhor é a formação do osso. Ou seja, existe uma relação positiva entre massa óssea e a ingestão de cálcio. As fontes nutricionais de cálcio na dieta da população são, na maioria das vezes, obtidas através da ingestão de leite e derivados. Além disso, o leite e seus derivados também possuem os CLA's que são um tipo de ácidos graxos com propriedades anticarcinogênica e hipocolesterolêmicas (Ribeiro, 2008).

Também deve ser esclarecido que tão importante quanto a quantidade de cálcio ingerida, é a quantidade de cálcio excretada. Os alimentos com carga ácida positiva, que liberam mais ácidos que bases, aumentam a excreção de cálcio e de magnésio e os laticínios, em especial os queijos, apresentam elevada carga ácida (Ribeiro, 2008).

Com relação ao leite materno, existe unanimidade ao afirmar que o melhor alimento para os bebês até o primeiro ano de vida é o leite materno.

Sua composição é específica e sutilmente modificada de acordo com a necessidade do bebê. Além de rico em gorduras, proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, enzimas e imunoglobulinas, ele protege contra infecções e alergias e possui fatores de crescimento que aceleram a maturação intestinal também prevenindo intolerâncias e alergias (Bastos, 2008).

O leite de vaca também possui fatores imunológicos de ótima qualidade, mas somente para o bezerro, pois estes fatores só irão funcionar para seres da mesma espécie (Jobst, 2008).

### *1.11. Panorama Geral do Mercado Leiteiro no Brasil*

As mudanças do início da década de 90, com a abertura da economia, liberação de preços e o plano de estabilização, trouxeram modificações importantes para toda a cadeia agroindustrial do leite, aumentando os investimentos no setor. O novo cenário foi reforçado com a implementação do Plano Real em 1994, aumentando o mercado consumidor e viabilizando aumentos de produção (Carvalho *et al.*, 2003).

Uma das mais significativas mudanças ocorrida no mercado de lácteos trata da importância assumida pelos supermercados como pontos de distribuição, a partir, principalmente, da entrada do leite esterilizado comercialmente (UHT) no mercado, que veio atender às exigências de comodidade e conveniência do consumidor, cada vez mais consciente de seus direitos.

A demanda por leite e derivados pode ser aumentada por diversos fatores, entre eles o aumento de população, crescimento de renda, redução de preços relativos de produtos concorrentes ou substitutos e mudanças nos hábitos alimentares. Na realidade, a demanda é alterada por diversos fatores que podem ocorrer simultaneamente.

Com a queda da renda da população, que ocorreu até meados do ano de 2003, com uma redução do salário mínimo em cerca de R\$ 9,00 ao ano a preços de dezembro de 2001, houve uma perda real do poder aquisitivo do consumidor com impactos inclusive no consumo de produtos lácteos. Contudo,

no início do Plano Real houve um crescimento do salário mínimo representando maior potencial de compra e com fortes impactos na demanda por produtos lácteos entre os anos de 1994 e 1997 (Carvalho *et al.*, 2003).

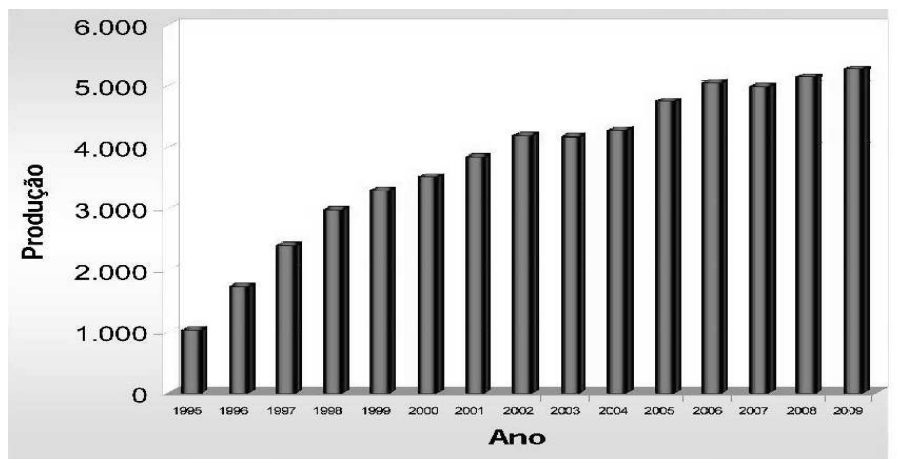
Além disso, o aumento populacional configura um aumento da demanda por alimentos, incluindo leite e seus derivados. O crescimento da população no período de 1960 a 1999 foi de 2,32%, muito aquém do crescimento da oferta de leite e derivados. Uma melhoria de renda proporcionada pelo aumento do salário mínimo a partir de 1994, ao inicial do Plano Real, proporcionou uma elevação de consumo de leite. Após o ano de 1998, o consumo de leite se estabiliza ao redor de 130 litros/habitante/ano.

**Tabela 1.1** - Consumo de leite no Brasil entre os anos de 1985 e 2000.

Ano	Consumo	
	(litros/habitante/ano)	Aumento (%)
1985	94	---
1990	107	12,15
1991	112	4,46
1992	108	-3,70
1993	107	-0,93
1994	113	5,30
1995	124	8,87
1996	135	8,15
1997	129	4,65
1998	130	0,77
1999	130	0,00
2000	129	0,78

Fonte: Banco de Dados Econômicos da Embrapa Gado de Leite, 2003.

Outro fator relevante foi o advento do consumo do leite longa vida (UHT) e o crescimento dos produtos de maior valor agregado como iogurtes, queijos e sobremesas, o que acabou provocando uma maior demanda da indústria. No gráfico abaixo, pode ser vista a evolução do consumo deste tipo de leite do ano de 1995 ao ano de 2009.



Fonte: FAPRI, 2010

**Figura 1.1** Evolução brasileira do consumo de leite longa vida de 1995 a 2009 (em milhões de litros).

A redução dos preços dos produtos lácteos representa a incorporação da parcela da população no mercado e estímulo ao consumo daqueles que já participavam dele, ou seja, ocorreu um aumento da renda real dos consumidores.

Com relação ao mercado externo, o Brasil é um tradicional importador de laticínios. Porém, a partir de 1995, ocorreu redução nos gastos com importação de lácteos e simultaneamente uma ligeira evolução na receita com exportações, valor que chegou a representar quase um quarto do volume importado em 2001 (Carvalho *et al.*, 2003).

**Tabela 1.2.** Exportações e importações de leite e derivados pelo Brasil no período de 1995 a 2001.

Ano	Exportações	Importações
	(US\$ 1.000 FOB)	(US\$1. 000 FOB)
1995	9.776	620.109
1996	24.983	523.276
1997	19.394	466.894
1998	25.817	518.969
1999	15.658	445.426
2000	24.974	378.620
2001	42.778	183.020

Fonte: Moruzzi e Carvalho, 2010

A atividade agropecuária sofreu fortes dificuldades em 2009. No caso do leite, o desestímulo em função dos baixos preços praticados no final de 2008 acarretou na queda de 4,52% na captação do 1º semestre. Também, as

adversidades climáticas (seca e depois excesso de chuva) castigaram o Sul do país, afetando a produção. A antecipação dos períodos de chuva também fez com que o pico da safra no Centro-Oeste e Sudeste chegasse antes. No 3º trimestre, a Pesquisa Trimestral do Leite, divulgada pelo IBGE, já apontou esta recuperação na captação nacional, que ficou 4,7% superior em relação a 2008.

No cenário externo, o mercado lácteo brasileiro também não conseguiu desenvolver-se. Ao contrário, obteve retrocesso. O país, que saiu da condição de importador de lácteos em 2004, voltou a apresentar déficit em sua balança comercial no ano de 2009. Dentre os diversos efeitos da crise econômica, a forte valorização do real frente ao dólar foi o principal desafio dos exportadores neste ano. Ao todo, foram exportadas 73,5 mil toneladas de lácteos, no valor de US\$ 178,5 milhões, o que representa uma queda de 50,0% em volume e 67% em valor quando comparado a 2008.

**Tabela 1.3.** Balança comercial de lácteos 2008 e 2009 e suas variações

	2008	2009	Diferença 08-09	Var (%) 08-09
<b>Exportação (US\$)</b>	73.551.306	148.562.944	-75.011.638	-50,5
<b>Exportação (Kg)</b>	178.509.705	540.880.050	-362.370.345	-67,0
<b>Importação (US\$)</b>	144.101.187	78.285.960	65.815.227	84,1
<b>Importação (Kg)</b>	280.537.890	213.145.198	67.392.692	31,6

Fonte MDIC,2010.

Em virtude da variação cambial, o leite brasileiro chegou a ser um dos mais caros do mundo, superando até mesmo os preços europeus. Devido a estas condições, passou a ser vantajoso para as empresas nacionais importarem leite de outros países, principalmente do MERCOSUL. Como resultado, foram importadas 45 mil toneladas de leite em pó da Argentina e 22,6 mil toneladas do Uruguai. Ao longo do ano, foram aplicadas várias medidas pelo governo brasileiro visando controlar a entrada de leite em pó destes países (Moruzzi e Carvalho, 2010).



Existe um otimismo por parte dos produtores, instituições de avaliação de mercado e de fomento, com relação ao consumo de leite no Brasil. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento fez no início do ano de 2010 uma projeção para o consumo de leite no Brasil para os próximos dez anos. Esta projeção, apresentada na tabela abaixo, mostra aumentos anuais tanto na produção, como exportação e consumo de leite.

**Tabela 1.4.** Estimativa da produção, consumo e exportação de leite no Brasil nos próximos 10 anos.

	<b>Produção (Bilhões de litros)</b>	<b>Consumo (Bilhões de litros)</b>	<b>Exportação (Bilhões de litros)</b>
<b>2009/10</b>	31,12	27,33	1,10
<b>2010/11</b>	31,80	27,93	1,18
<b>2011/12</b>	32,46	28,52	1,27
<b>2012/13</b>	33,12	29,11	1,35
<b>2013/14</b>	33,78	29,71	1,44
<b>2014/15</b>	34,45	30,30	1,52
<b>2015/16</b>	35,11	30,90	1,60
<b>2016/17</b>	35,77	31,49	1,69
<b>2017/18</b>	36,43	32,08	1,77
<b>2018/19</b>	37,09	32,68	1,85
<b>2019/20</b>	37,75	33,27	1,94
<b>Taxa anual</b>	<b>1,98</b>	<b>1,98</b>	<b>5,78</b>

Fonte: AGE/MAPA,2010

Apesar da queda nos preços dos alimentos, durante algum momento do ano o leite foi o vilão da inflação em 2009. Entre dezembro de 2008 e o encerramento de 2009, produtos alimentícios de maior importância na mesa do brasileiro, como o arroz e feijão, ficaram mais baratos em todas as 17 capitais pesquisadas pelo DIEESE (Departamento Intersindical de Estatística e Estudos Socioeconômicos). No entanto, leite, óleo e batata também tiveram predomínio de alta na maioria das capitais brasileiras em 2009, de acordo com dados do DIEESE (Moruzzi e Carvalho, 2010).

O ano de 2010 foi um ano atípico para a atividade leiteira nacional devido, principalmente, à antecipação do pico de preços e queda desses durante a entressafra. Entretanto, no fim do ano, entre setembro e outubro, o mercado se ajustou e a expectativa é de que o ano termine assim. A explicação para esse comportamento inicia-se com a oferta. No primeiro semestre existia quase 10% a mais de leite frente ao mesmo período de 2009. Além disso,

balança comercial não ajudou, pois houve entrada de leite superior à quantidade que saiu, elevando a oferta já em excesso. Por fim, devido a um forte crescimento da produção no 2o semestre de 2009, possivelmente a entrada no ano de 2010 possuía relativo volume estocado e elevado patamar de disponibilidade per capita de leite. Os mercados de leite longa vida e leite em pó obtiveram estabilidade de preços (Carvalho e Castro, 2010).

O mercado para o leite e derivados tem condições de expansão, apesar da forte competição com outras bebidas, como refrigerantes, sucos de frutas e de soja. Este crescimento pode ser estimulado a partir de uma atuação conjunta dos diversos segmentos da cadeia produtiva para incentivar o consumidor, mostrando as qualidades do produto. Sem um ação objetiva para promovê-lo, uma eventual expansão pode se dar apenas em nível suficiente para satisfazer o crescimento vegetativo da população. O aumento do mercado com vistas ao mercado externo exigirá esforços também para melhorar a qualidade do produto (Silva, 2008).

### *1.12. A Cromatografia Gasosa na Análise de Alimentos e outras Técnicas Analíticas*

Uma das formas de analisar ácidos graxos em alimentos é através da técnica de Cromatografia a Gás (CG). Porém, é necessário anteriormente fazer a derivatização clássica que consiste na conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos de ácidos graxos. Este processo permite que os ácidos tornem-se menos polares e mais voláteis.

Nas últimas décadas, os trabalhos científicos têm esclarecido as funções dos lipídios no metabolismo humano, propiciando uma maior compreensão de suas relações no desenvolvimento da saúde e também das doenças. Em contrapartida, na atualidade, tem ocorrido o aumento do número de casos de problemas de saúde associados à má alimentação, como obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares.

Os ácidos graxos, além de ser a maior fonte de energia por grama, possuem a característica de não sofrerem alteração em sua estrutura durante a digestão. Portanto, aquilo que foi ingerido em termos de composição de ácidos

graxos será automaticamente refletido no organismo. Devido a este fato, na atualidade, está ocorrendo o apelo para a redução do consumo de alimentos ricos em ácidos graxos saturados e de ácidos graxos *trans* de origem vegetal.

Além disso, recomenda-se a ingestão de ácidos graxos como os da família ômega-3, que são essenciais ao organismo, além daqueles que trazem benefícios à saúde, como os CLA's (Simionato, 2008).

O avanço no estudo da Química de Alimentos está totalmente relacionado ao surgimento e aprimoramento da cromatografia em fase gasosa (CG). Esta técnica tem sido desde a sua origem, no início da década de 1950, indispensável para o estudo de misturas complexas de ácidos graxos (Ackman, 2002).

Com a introdução, no final da década de 1970, de suportes para colunas cromatográficas constituídos de sílica fundida, e subseqüentemente com o intenso desenvolvimento de fases estacionárias líquidas, a utilização de colunas capilares tornou-se cada vez mais comum (Barry, 1995). Associado a isto, o aumento de pratos teóricos promovido pelo desenvolvimento de colunas capilares maiores, possibilitaram a separação de misturas complexas, permitindo a aplicação da técnica analítica em análises de rotina em laboratórios de cromatografia (Ackman, 1972).

Estes avanços tiveram um grande impacto no estudo dos ácidos graxos, contribuindo, entre outros aspectos, para a investigação mais detalhada sobre a existência de isômeros posicionais e geométricos com funções biológicas distintas, que antes não haviam sido separados ou identificados. A Cromatografia a Gás é a técnica que mais tem sido aplicada ao estudo dos ácidos graxos, devido principalmente ao desenvolvimento de fases estacionárias que possibilitam a separação dos diversos isômeros posicionais e geométricos existentes na mistura (Simionato, 2008).

Os ácidos graxos, por CG, são analisados preferencialmente sob a forma de ésteres metílicos e a eficiência da separação é muito dependente da temperatura de análise e do comprimento da coluna (Ledoux, Laloux e Wolff,

2000). Assim, para que possa ser utilizada esta técnica, é necessário uma derivatização clássica, ou seja, a conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos de ácidos graxos. Esse processo permite que o ácido graxo torne-se menos polar e mais volátil (Fuente, Luna e Juarez, 2006). Os ésteres metílicos de ácidos graxos são os derivados mais utilizados devido à grande quantidade de procedimentos disponíveis na literatura.

Para análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos, são utilizadas geralmente colunas com 50 a 100 m de comprimento, contendo fase estacionária de elevada polaridade, como aquela constituída de cianoalquil polisiloxano. A separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos pode ser realizada em três diferentes tipos de coluna, com fase estacionária apolar, polar e muito polar (Christie, 1998).

No entanto, para análise de ácidos graxos em alimentos as colunas polar e muito polar são as mais utilizadas porque, evitam a co-eluição dos ésteres metílicos de ácidos graxos poliinsaturados e permitem uma melhor separação dos isômeros *cis-trans* presentes nas matrizes, baseada na volatilidade desses compostos (Fuente, Luna e Juarez, 2006; Roach *et al.*, 2002).

Nos últimos anos começaram a ser produzidas colunas contendo fases estacionárias de alta polaridade, sendo quimicamente ligadas. Esta tecnologia aumenta a resistência mecânica da fase estacionária e confere uma maior estabilidade térmica, resultando no aumento do tempo de vida útil da coluna, entre as quais se destaca a CP Select CB-FAME por ser 100% ligada quimicamente (Peene *et al.*, 2003).

Infelizmente, CG sozinha não é eficiente para separar alguns isômeros individualmente. Para tal, são utilizadas técnicas complementares como Cromatografia líquida de alta eficiência com coluna de prata (CLAE/Ag<sup>+</sup>), ou ainda uma pré-separação usando Cromatografia em camada delgada recoberta com íons prata (CCD/Ag<sup>+</sup>). Essas técnicas são as ferramentas poderosas para separação de isômeros, entretanto, para controle de qualidade de laboratórios,

técnicas mais simples são requeridas, uma vez que as mostradas acima consomem muito tempo e dinheiro (Golay *et al.*, 2007; Roach *et al.*, 2002).

A separação de isômeros empregando CCD/Ag<sup>+</sup> associada à análise por CG foi muito empregada nas últimas décadas, permanecendo ainda em uso. Os ácidos graxos geralmente são fracionados sob a forma de ésteres metílicos e o processo baseia-se na formação de complexos entre o íon prata e as duplas ligações. Assim, quanto maior o número de duplas ligações do ácido graxo, maior será a extensão da complexação. Devido ao impedimento estérico ocasionado pela presença de insaturações *trans*, os complexos formados com estas duplas ligações apresentam menor estabilidade que os seus correspondentes *cis*. Por conseguinte, o fator de retenção dos ésteres metílicos depende principalmente da configuração geométrica das ligações etilênicas e do grau de insaturação do ácido graxo (Dobson, Christie e Nikolova-Damyanova, 1995).

Embora esta técnica seja extremamente acessível e muito eficaz na separação entre os ácidos graxos *cis*, *trans* e saturados, diversas dificuldades operacionais estão relacionadas à sua aplicação. Entre estas se destacam: a preparação e o manuseio das placas em local pouco iluminado, o risco de contaminação entre as frações *cis* e *trans*, a influência da temperatura sob a separação, o elevado tempo de análise e a necessidade de um treinamento intenso do analista (Ratnayake, 1998).

Na CLAE/Ag<sup>+</sup> foi inicialmente empregado colunas de sílica gel impregnadas com nitrato de prata. Nestas colunas, o tempo de uso é grandemente limitado pela eluição dos íons Ag<sup>+</sup>. Para contornar este problema têm sido utilizadas pré colunas saturadas com nitrato de prata, mas a eluição de íons Ag<sup>+</sup> contamina as frações, podendo ainda danificar o sistema de detecção do equipamento. O uso destas colunas tem sido restrito, principalmente por não serem comercializadas, o que implica em seu preparo no laboratório, requerendo experiência para isto (Dobson, Christie e Nikolova-Damyanova, 1995; Cristhie, 1998).

Devido dificuldades associadas ao uso de colunas preparadas por impregnação, foram desenvolvidas colunas com trocadores catiônicos ligados a espécie  $\text{Ag}^+$ , para serem utilizadas em Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE). A perda de íons  $\text{Ag}^+$  nestas colunas é limitada, uma vez que a prata encontra-se unida à resina através de ligação iônica. Em geral, a resolução destas colunas é gradualmente diminuída após três meses de uso contínuo (Neff, Adlof e El-Agaimy, 1994).

A derivatização, processo pelo qual as amostras são submetidas para a análise de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa, pode ter problemas relacionados com a preparação dos ésteres, que são: conversão incompleta dos lipídios aos ésteres metílicos de ácidos graxos, mudança na composição dos ácidos graxos durante a transesterificação, formação de artefatos que podem ser identificados como ácidos graxos, mas não são, sobreposição de picos de ésteres metílicos de ácidos graxos na análise por Cromatografia Gasosa, contaminação e, conseqüentemente, dano à coluna cromatográfica proveniente de traços de reagentes esterificantes, extração incompleta de ésteres metílicos de ácidos graxos e perda de ésteres metílicos de cadeia curta e muito voláteis (Milinsk *et al.*, 2008).

Os processos de derivatização mais utilizados para a análise de ácidos graxos são através de uma catálise ácida ou de uma catálise básica. A metilação por catálise básica usando  $\text{NaOCH}_3$  ou  $\text{KOH}$  em metanol, à temperatura ambiente tem sido considerada a determinação de maior confiança para identificação de isômeros conjugados de ácidos graxos, como os do ácido linoleico, porque ela não causa isomerização e não produz artefatos (Fuente, Luna e Juarez, 2006).

Além disso, reduz a perda de ácidos graxos de cadeia curta. Entretanto, o  $\text{KOH}$  com metanol não é capaz de reagir com ácidos graxos livres e não metila completamente os graxos (Fuente, Luna e Juarez., 2006).

A metilação por catálise ácida empregando  $\text{BF}_3$ ,  $\text{HCl}$  ou  $\text{H}_2\text{SO}_4$  favorece uma extensiva isomerização de dienos conjugados e contribui para formação

de artefatos alílicos metoxilados, além de atrasar a análise cromatográfica (Fuente, Luna e Juarez, 2006).

Quando é utilizada a técnica da cromatografia à gás para análise de alimentos, o detector de ionização de chama é o mais conveniente devido à quantidade mínima detectável ( $10^{-12}$ g), resposta quase universal, faixa de linearidade e resposta rápida. Apesar de responder a propriedades do soluto, este é sensível ao fluxo de massa que passa por ele. No entanto, a resposta do detector de ionização de chama é diferencial, ou seja, a magnitude do sinal é proporcional ao número de carbono ativo, logo ésteres metílicos com diferentes cadeias carbônicas apresentarão diferentes respostas no detector de ionização de chama (Collins, Braga e Bonato, 2006; Visentainer e Franco, 2006).

Na análise de lipídios por CG faz-se a identificação dos componentes da amostra através da comparação dos tempos de retenção dos compostos com aqueles obtidos através da injeção de padrões contendo as substâncias a serem analisadas. No entanto, este procedimento não é conclusivo, pois componentes diferentes podem ter o mesmo tempo de retenção. Alternativas usadas na identificação são: A) a adição de padrão (*spiking* ou fortificação), B) utilização de padrão secundário, C) métodos gráficos, D) uso de colunas com diferentes polaridades e E) índices sistemáticos de retenção. Dentre estes, o índice de retenção de Kovats é um método que se baseia no comprimento equivalente da cadeia (ECL, do inglês, *Equivalent Chain Length*) e é muito aplicado por ser um método simples, de fácil aplicação e de baixo custo (Visentainer e Franco, 2006).

Como alternativa de técnica de separação de ácidos graxos, a espectrometria de massas pode substituir a cromatografia gasosa, dispensando o uso de padrões para identificação ou quantificação, porém, ainda é uma técnica de alto custo de aquisição e manutenção (Mendham, 2002).

### 1.13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKMAN, R.G. **The analysis of fatty acids and related materials by gas-liquid chromatography.** Progress in the Chemistry of Fats & Other Lipids, v. 12, pp.165-284, 1972.

ACKMAN, R.G. **The gas chromatography in practical analysis of common and uncommon fatty acids for the 21st century.** *Anal. Chem. Acta*, v. 465, pp.175-192, 2002.

AGE/ MAPA – Assessoria de Gestão Estratégica do Ministério da Agricultura. Projeções do Agronegócio Brasil 2009/10 a 2019/20. Brasília, 2010, 50p.

AHRENS, E.H., BLANKENHORN, D.H., TSALTAS, T.T. **Effect on human serum lipids of substituting for animal fat in the diet.** *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v. 86, pp.872-878, 1954

ALAIS, C. **Ciência do leite.** México/DF, Cia. Editorial, 1971

ANGELIS, R. C. **Novos conceitos em nutrição: reflexões a respeito do elo dieta e saúde.** *Arq. Gastroent.*, São Paulo, v. 38(4), pp.269-271, out./dez. 2001

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO – ABIQ - Disponível em < [www.queijosnobrasil.com.br](http://www.queijosnobrasil.com.br) > Acessado em 27 de janeiro de 2010.

BANCO DE DADOS ECONÔMICOS DA EMBRAPA GADO DE LEITE, **Consumo de leite no Brasil entre os anos de 1985 e 2000,** 2003. Disponível em <http://www.cnpqgl.embrapa.br> Acessado em 29 de janeiro de 2011.

BARCELLI, U.O. GLASS-GREENWALT P., POLLAK, V.E. **Enhancing effect of Dietary supplementation with omega-3 fatty acids on plasma fibrinolysis in normal subjects.** *Throm. Res.* v.39, pp.307-312, 1985

BARRY, E.F. **Columns: packed and capillary/column selection in Gas Chromatography.** *In:* Grob, R.L. (editor). *Modern practice of gas chromatography.* New York: John Wiley & Sons, 887p., 1995.



BELDA, M.C.R. CAMPOS, M.A. **Ácidos Graxos Essenciais em nutrição: uma visão atualizada.** *Ciênc.Tecnol. Alim.*, v.11, pp.5-33, 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel.** Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. **Lex:** Diário Oficial da União de 20/09/2002, Seção 1, Página 13.

BYERS, F.M., SCHELLING, G.T. **Lipids in ruminant nutrition.** *In:* CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition.* New Jersey: A Reston Book. pp. 298-312, 1989

CARVALHO, L.A., NOVAES, L.P., GOMES, A.T., MIRANDA, J.E.C., RIBEIRO, A.C.C. **.L.Mercado de Leite e de Derivados.** EMBRAPA Gado de Leite, 2003, disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>> *Acessado em 14/09/2010.*

CARVALHO, M.P. & CASTRO, R. **O Atípico ano de 2010 Chega ao Fim Equilibrado.** Dezembro de 2010. Disponível em <<http://www.milkpoint.com.br>> *Acessado em 06/04/2011.*

CHIN, S.F., LIU, W., STORKSON, J.M. *et al.* **Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognised class of anticarcinogens.** *J. Food Comp. Anal.*, v.5, pp. 185-197, 1992

CHRISTIE, W.W. **Some recent advances in the chromatographic analysis of lipids.** *Analysis*, v. 26, pp.34-40, 1998.

COBUCI, J.A., EUCLYDES, R.F., VERNEQUE, R.S., TEODORO, R.L., LOPES, P.S., SILVA, M.A. **Curva de Lactação na Raça Guzerá.** *Rev.Bras. Zootec.*, v. 29(5), pp.1332-1339, 2000.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia.** Editora Unicamp, Campinas, São Paulo, 2006.

COLLOMB, M., SOLLBERGER, H., BÜTIKOFER, U., SIEBER, R., STOLL, W., SCHAREN, W. **Impact of a basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflowerseed on the fatty acid composition of milk fat.** *Intern. Dairy J.*, v.14, pp. 549-559, 2004.

COSTA, N. M. B.; BORÉM, A. **Biotecnologia e nutrição: saiba como o DNA pode enriquecer os alimentos.** São Paulo: Nobel, 214 p, 2003

CRAWFORD, M. A., **Fatty Acids ratios in free-living and domestic animals.** *Lancet*, v.1, pp.1329-1333, 1968.

CRAWFORD, M.A., GALE, M.M., WOODFORD, M.H., **Linolenic acid and linolenic acid elongation products in muscle tissue of Syncerus caffer and other ruminant species.** *Biochem. J.*, v.115, pp.25-27, 1969

CRAWFORD, M.A. *et al.* **Evidence for the Unique Function of Docosahexaenoic Acid During the Evolution of the Modern Hominid Brain.** *Lipids*, Washington, v.34(S39-S47), 1999

CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. **Entendendo as gorduras.** São Paulo: Manole, 580p., 2002

DEPARTMENT OF HEALTH. **Report on Health and Social Subjects, n.46. Nutricional Aspects of Cardiovascular disease.** HMSO, London, n.46, 178p., 1994

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY REPORT ON HEALTH AND SOCIAL SUBJECTS: n° 28. **Diet and Cardiovascular Disease** HMSO, London,1984. *Apud: Meat Science*, v.42, pp.443-456,1996

DERGAL, B. **Química dos Alimentos.** Salvador: Editorial Pearson Addison Wesley, 4ª Ed., pp. 603-604, 2004

DOBSON, G., CHRISTIE, W.W., NIKOLOVA-DAMYANOVA, B. **Silver ion Chromatography of lipids and fatty acids.** *J. Chromat.B.*, v. 67, pp.197-222, 1995.

EWING, J. **O Lado Sadio das Gorduras**. Trad. Ana Beatriz Rodrigues. Rio de Janeiro: Ed. Campus Ltda.,162p, 1997

FAPRI – Food and Agricultural Policy Research Institute Disponível em <www.fapri.org> Acessado em .29 de janeiro de 2011.

FUENTE, M.A. DE LA; LUNA, P.; JUAREZ, M. **Chromatographic techniques to determine conjugated linoleic acid isomers**. *T. Anal. Chem.*, v. 25(9), pp.917-926, 2006.

GALLI, C.; SIMOPOULOS, A.P.; **Dietary  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 fatty acids: biological effects and nutritional essentiality**. Plenum Press, New York, pp.391-402, 1989. *Apud: Am. J.Clin. Nutr.*, v.54, p. 438-463, 1991

GERMAN, J. B., **The Milk Genome: Using Science to Mine the Benefits of Our Most Nutritious Food**. *Calif. D. Disp.* v.14(1), pp.1-8, 2004.

GERSTER, H. **Can adults adequately convert alfa-linolenic (18:n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)?** *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* v.68, pp.159-173, 1997

GOLAY, P. A. ; DIONISI, F. ; HUG, B. ; GIUFFRIDA, F.; DESTAILLATS, F. **Direct quantification of fatty acids in dairy powders with special emphasis on trans fatty acid content**. *F. Chem.*, v.3, pp.1115-1120, 2007.

GONZÁLEZ, F. H. D. E CAMPOS, R. **O leite como indicador metabólico-nutricional em vacas**. *A Hora Veterinária*, v.22 (131), pp.36-38, 2003.

IP, C., CHIN, S.F., SCIMECA, J.A. *et al.* **Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid**. *Cancer Res.*, v.51, pp.6118-6124, 1991

CONGRESSO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO CLÍNICA, nº4, 2008, São Paulo. **Efeitos do Leite na Individualidade Bioquímica**, 2008, 15p.

JOBST, D. **Efeitos Adversos do Leite**. Publicado em julho de 2008. Disponível em < [www.minhavidade.com.br/especialistas/52-Daniela-Jobst.htm](http://www.minhavidade.com.br/especialistas/52-Daniela-Jobst.htm)>. Acessado em 5 fev. 2010.

KELLY, M.L., BAUMAN, D.E. **Conjugated linoleic acid: a potent anticarcinogen found in milk fat**. *Proc. Cornell Nutr. Conf.*, Ithaca NY, pp.68-74, 1996.

KEPLER, C.R., HIRONS, K.P., MCNEILL, J.J. *et al.* **Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens***. *J. Biol. Chem.*, v.241, pp.1350-1354, 1966.

KRIS ETHELTON, P.M.; TAYLOR, D.S.; YU-POT, S.; *et al.* **Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the USA**. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.71, pp.179s – 188s, 2000

LAYNE, K.S. *et al.* **Normal Subjects consuming physiological levels of 18:3 (n-3) and 20:5 (n-3) from flaxseed or fish oils have characteristic differences in plasma lipid and lipoprotein fatty acids levels**. *J. Nutr.*, v.126, pp. 2130-40, 1996

LEDGER, H.P. **Body composition as a basis for a comparative study of some East African animals**. *Symp. Zool. Soc.*, London, v.2, pp.289-310, 1968.

LEDOUX, M., LALOUCX, L., WOLFF, R.L. **Analytical methods for determination of trans-C18 fatty acid isomers in milk fat**. A review. *Analysis*, v. 28, pp.402-412, 2000.

LICHTENSTEIN A.L. **Dietary fat: a history**. *Nutr. Rev*, v.57, pp.11-14, 1999.

LIMA, F. E. L.; MENEZES, T. N.; TAVARES, M. P.; SZARFARC, S. C.; FISBERG, R. M. **Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão**. *Revista Nutrição*, Campinas-SP, v. 13(2), pp. 73-80, 2000

MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J.K., HINTZ, H.F., WARNER, R.G. **Nutrição Animal**. Trad. ANTONIO B. NEIVA FIGUEIREDO. 3ªed, Edit. Freitas Bastos, Rio de Janeiro, 1984, 736 p.

MENDHAM, J.B. **Vogel: Análise Química Quantitativa**. 6ª edição, LTC, 2002.

MILINSK, M.C, MATSUSHITA, M., VISENTAINER, J.V., OLIVEIRA, C.C., SOUZA, N.E. **Comparative analysis of eight esterification methods in the quantitative determination of vegetable oil fatty acid methyl esters (FAME)**. *J. Brazilian Chem. Society*, in press, 2008.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR, **Balança comercial de lácteos 2008 e 2009 e suas variações**,2010. Disponível em < <http://www.mdic.gov.br/balancacomercial>> Acessado em 29 de janeiro de 2011.

MODESTO,E.C.SANTOS,G.T;VILELA,D.;GONÇALVES,G.D;MAKOTO,M.**Efeitos Nutricionais de Dietas Ricas em Ácidos Graxos Poliinsaturados para os Ruminantes e alguns Benefícios para o Homem**. *Arq. Ciên. Vet. Zool.*, UNIPAR. v.5(1), pp. 119-134, 2002

MORUZZI, M.M., CARVALHO, M.P., **Mercado Lácteo: primeiros sinais de 2010**. Janeiro de 2010. Disponível em <<http://www.milkpoint.com.br>> Acessado em 22/09/2010

NAVARRO, M. D.; HORTELANO, P.; PERIAGO, J. L.; PITA, M. L. **Effect of dietary olive and sunflower oils on the lipid composition of the aorta and platelets and on blood eicosanoids in rats**. *Arteriosc. and Thromb., Dallas*. v.12(7), pp. 830-835,1992

NEFF, W.E., ADLOF, R.O, EL-AGAIMY, M. **Silverp íon high-performance liquid chromatography of the triacylglycerols of crepis-alpina seed oil**. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.71, pp.853-855, 1994.

**“Nutrición y Salude – Lacteos”**. Disponível em <<http://www.ua-cc.org/lacteos.jsp>>. Acessado em 27 jan. 2010.

PALMQUIST, D.L. **Suplementação de lipídios para vacas em lactação**. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, v.6, 1989, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, pp.11-25, 1989

PARODI, P.W. **Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk.** *Aust. Dairy Technol.*, v.49, pp.93-97, 1994.

PARODI, P.W. **Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agent.** *J. Nutr.*, v.127, pp.1055-1060, 1997

PEENE, J., ZEEUW, J., BIERMANS, F., JOZIASSE, L. **CP-Select CB for FAME, 2003.** Disponível em: <<http://www.vaianinc.com>> Acessado em: 20/05/2009.

PEREIRA, S. E. **Os benefícios do óleo de canola como alimento funcional na dieta usual.** *Nutrição em Pauta*, n. 66, pp. 19-25, maio/jun. 2004

PEREIRA, A.B., *et al.* **The Origin of European cattle: Evidence from Modern and Ancient DNA.** *PNAS, USA*, v. 103(21), pp. 8113-8118, 2006.

RAPER, N.R., CRONIN, F.J., EXLER, I. **Omega-3 Fatty Acid Content of the US Food Supply.** *J. Am. Coll. Nutr.*, v. 11, pp.304-308, 1992.

RATNAYAKE, W.M.N. **Analysis of trans fatty acids.** *In: SEBÉDIO, J.L., CHRISTIE, W.W. (editors). Trans fatty acids in human nutrition.* Dundee: The oil press, 1998.

RIBEIRO, P. **Consumo de Leite é Alvo de Controvérsias entre Profissionais da Saúde.** Artigo de janeiro de 2008. Disponível em <<http://www.portaleducacao.com.br/fisioterapia/artigos/3345/consumo-de-leite-e-alvo-de-controversia-entre-profissionais-de-saude>> Acessado em 05 fev. 2010.

RIQUE, A. B. R.; SOARES, E. A.; MEIRELLES, C. M. **Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares.** *Ver. Bras. Med. Esp.*, São Paulo, v. 8(6), pp. 244-254, 2002.

ROACH, J.A.G.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P., KRAMER, J.K.G. **Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers.** *Anal. Chym. Acta*, v. 465, pp.207-226, 2002.

SCHMIDT, G.H. **Biología de la lactacion**. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha, 1974, 307p.

SEÇKIN K.A.; GURSOY, O; KINIK O.; AKBULUT, N. **Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish dairy products**. *Food Scic. Tech.*, v.38, pp.909–915, 2005.

SILVA, R.O.P. **Evolução das Características do Mercado de Leite**. *Análises e Indicadores do Agronegócio*. v. 3(10), pp. 1-4, 2008.

SIMIONATO, J.I. **Composição Química e Quantificação de Ácidos Graxos com Ênfase ao Ácido Linoléico Conjugado (CLA) em Leite e Derivados**, 2008. 115f. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

SIMOPOULOS, A.P., **Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development**. *Am. J. Clinic Nutr.*, v.54, pp.438-463, 1991.

SIMOPOULOS, A.P., **Overview of evolutionary aspects of  $\omega$ -3 fatty acids in the diet**. In: Simopoulos, A.P., editor. **The return of  $\omega$ -3 fatty acids into the food supply**. I. Land-based animal food products and their health effects. *World Rev. Nutr. Diet*, Basel: Karger.v.83. 1998.

SIMOPOULOS, A.P. **The Importance of the ratio of Omega-6/Omega-3 essential fatty acids**. *Biomed Pharmacotherapy*, v.56. pp. 365-379, 2002.

SUGANO, M. e HIRAHARA, F. **Polyunsaturated Fatty Acids in the Food Chain in Japan**. *Am. Journal Clin. Nutr.*, v.71 (suppl.) pp.1895 – 1965, 2000.

VALENZUELA, A.B. **LCPUFA Omega-3 en la salud y nutricion humana**. *INTA*, Universidad de Chile.14p.2000.

VISENTAINER, J.V.;FRANCO,M.R.B. **Ácidos Graxos em Óleos e Gorduras: Identificação e Quantificação**. São Paulo: Livraria Varela, 120p. 2006

## **CAPÍTULO 2**

### **COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS DE LEITES DE VACA COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DA CIDADE DE CAMPINAS/SP**

**Natalia Andrade Zancan, Marcelo Alexandre Prado**

**Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de  
Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), CP 6121,  
13083-862, Campinas, SP, Brasil**



## RESUMO

A fração lipídica do leite é um componente nutricional importante, pois possui ácidos graxos essenciais, ácidos graxos insaturados (AGI), ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) e ácidos graxos conjugados (CLA), que são considerados alimentos funcionais, prevenindo doenças e atuando na manutenção da saúde. O objetivo deste trabalho foi realizar a composição e quantificação de ácidos graxos presentes em leite UHT desnatado, semidesnatado, integral e integral em pó comercializados em supermercados da cidade de Campinas/SP. Foram adquiridas três marcas de cada tipo de leite, sendo dois lotes de cada uma delas. Foi feita a homogeneização de duas unidades de leite de cada lote para melhorar a representatividade e foram feitas triplicatas de cada replicata. A extração dos lipídios foi feita através da metodologia de Bligh Dyer e a composição e quantificação dos ácidos graxos através da técnica de cromatografia a gás (CG). Para tal, os ácidos graxos foram transformados em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME's), através da reação de derivatização por catálise básica adaptada de Bannon *et al.* (1982). Na extração lipídica, a quantidade de gordura obtida não diferiu muito em relação às quantidades informadas nas embalagens dos produtores. Nas análises cromatográficas, foram obtidas diferenças significativas nos três lotes avaliados da marca 1 de leite desnatado quanto a 10:0, 12:0, 13:0,14:0, 15:0, 16:1, 18:2n-6c, 18:3n-3c, AGS, AGPI, n-6, n-6/n-3 e C4-C12. Na marca 2 de leite desnatado, as diferenças significativas estavam em todos os ácidos graxos saturados e em 14:1, 16:1, 18:1n-9c, 18:2n-6c, 18:3n-3c, 20:5n-3, AGS,AGMI,n-3, C4-C12, C13-C17, C18. No leite semidesnatado, na marca 1, as diferenças estão em 14:1, 16:1, 18:3n-3c, 18:3n-6, , AGI/AGS, n-3, n-6, n-6/n-3 e na marca 2 em 14:1, 16:1,18:3n-6, n-6/n-3. No leite integral as diferenças estão em todos os saturados e insaturados com exceção do 17:1, 18:3n-6, 20:2, 20:3n-6, 20:4n-6, 22:1n-9 e em AGPI, na marca 2, em todos os saturados, insaturados, com exceção de 17:1, 20:2, 20:3n-6, 20:4n-6, 22:1n-9. Por último, no leite em pó integral, na marca 1, não foram encontradas diferenças somente em 18:2n-6t e em AGI/AGS. Na marca 2, as diferenças não foram encontradas somente em 4:0, 14:0, 15:0, 16:0, 20:0, 15:1, 18:3n-3c,

20:1, AGS e C13-C17. Não foram detectados CLA's em ambas marcas de leite em pó. Não houve variações muito grandes entre as amostras e marcas analisadas, porém, as análises ofereceram um melhor conhecimento dos ácidos graxos presentes no leite UHT, o mais consumido pela população e no leite em pó integral.

**Palavras – chave:** Leite, Lipídios, Ácidos Graxos Bligh Dyer, Derivatização, Cromatografia a Gás, Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos (FAME's)

## ABSTRACT

The lipid fraction of milk is an important nutritional component because it has essential fatty acids, unsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids (MUFA), polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and conjugated fatty acids (CLA), which are considered functional foods, acting on preventing disease and maintaining health. The aim of this study was the composition and quantification of fatty acids present in UHT skim milk, semi skimmed, full and powdered full sold in supermarkets in Campinas / SP. We acquired three brands of each type of milk, two batches of each. Was made to homogenize the two units from each lot of milk to improve the representation and triplicates were made for each replicate. The lipid extraction was performed using the method of Bligh and Dyer and the composition and quantification of fatty acids by the technique of gas chromatography (GC). To this end, the fatty acids were converted into fatty acid methyl esters (FAME's) through the derivatization reaction by basic catalysis adapted from Bannon et al. (1982). The Lipid extraction, the amount of fat obtained did not differ much in relation to amounts reported in the packaging producer. In chromatographic analysis, significant differences were obtained in three batches evaluated a brand of skimmed milk as 10:0, 12:0, 13:0,14:0, 15:0, 16:1, 18:2 n-6c, 18:3 n-3c, saturated, PUFA, n-6, n-6/n-3 and C4-C12. In the second brand of skimmed milk, the differences were significant in all saturated fatty acids and 14:1, 16:1, 18:1 n-9c, 18:2 n-6c, 18:3 n-3c, 20:5 n-3, summation of saturated, MUFA, n-3, C4-C12, C13, C17, C18. In semi-skimmed milk, in a brand 1, the differences are in 14:1, 16:1, 18:3 n-3c, 18:3 n-6, AGI / SFA, n-3 n-6 and n-6 / n -3 and brand 2 in 14:1, 16:1,18:3 n-6, n-6/n-3. Differences in full milk are all saturated and unsaturated with the exception of 17:1, 18:3 n-6, 20:2, 20:3 n-6, 20:4 n-6, 22:1 n-9 PUFA and, in the brand 2 in all saturated, unsaturated, with the exception of 17:1, 20:2, 20:3 n-6, 20:4 n-6, 22:1 n-9. Finally, milk full powder, in a brand 1, no differences were found only in 18:2 n-6t and PUFA / SFA. In brand 2, the differences were not found only in 4:0, 14:0, 15:0, 16:0, 20:0, 15:1, 18:3 n-3c, 20:1, sommation of saturated and C13-C17. CLA's were not detected in both brands of milk full powder. There were no great variations between the samples and analyzed brands, however,

the analysis provided a better understanding of the fatty acids present in milk UHT, the most widely consumed by the population and milk powder.

**Keywords:** Milk, Lipids, Fatty Acids, Bligh Dyer, Derivatization, Gas Chromatograph, Methyl Esters of Fatty Acids (FAME's).

## 2.1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os trabalhos científicos têm esclarecido as funções dos lipídios no metabolismo humano, propiciando uma maior compreensão de suas relações no desenvolvimento da saúde e também das doenças. Em contrapartida, na atualidade, tem ocorrido o aumento do número de casos de problemas de saúde associados à má alimentação, como obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares.

Os ácidos graxos, além de ser a maior fonte de energia por grama, possuem a característica de não sofrerem alteração em sua estrutura durante a digestão. Portanto, aquilo que foi ingerido em termos de composição de ácidos graxos será automaticamente refletido no organismo. Devido a este fato, na atualidade, está ocorrendo o apelo para a redução do consumo de alimentos ricos em ácidos graxos saturados e de ácidos graxos *trans* de origem vegetal.

Além disso, recomenda-se a ingestão de ácidos graxos como os da família Ômega-3, que são essenciais ao organismo, além daqueles que trazem benefícios à saúde, como o Ácido Linoleico Conjugado (CLA's) (Simionato, 2008).

Com relação ao leite, a composição de ácidos graxos dos ruminantes é particularmente distinta, já que é caracterizada por conter ácidos graxos de cadeia curta e pouca quantidade de ácidos graxos insaturados (Palmquist e Mattos, 2006). Esta diferenciação na composição do leite dos ruminantes inicia na fermentação ruminal pela produção de ácidos graxos voláteis lipogênicos acético e butírico que alcançam a glândula mamária na forma de  $\beta$  hidroxibutirato e acetato, que são fundamentais para a síntese *de novo* de ácidos graxos de cadeia média, sobretudo de cadeia curta, mas limitados para a produção de ácidos graxos de cadeia longa (Van Soest, 1994).

O avanço no estudo da Química de Alimentos está totalmente relacionado ao surgimento e aprimoramento da cromatografia em fase gasosa (CG). Esta técnica tem sido desde a sua origem, no início da década de 1950, indispensável para o estudo de misturas complexas de ácidos graxos (Ackman, 2002).

Com a introdução, no final da década de 1970, de suportes para colunas cromatográficas constituídos de sílica fundida, e subseqüentemente com o intenso desenvolvimento de fases estacionárias líquidas, a utilização de colunas capilares tornou-se cada vez mais comum (Barry, 1995). Associado a isto, o aumento de pratos teóricos promovido pelo desenvolvimento de colunas capilares maiores, possibilitaram a separação de misturas complexas, permitindo a aplicação da técnica analítica em análises de rotina em laboratórios de cromatografia (Ackman, 1972).

Estes avanços tiveram um grande impacto no estudo dos ácidos graxos, contribuindo, entre outros aspectos, para a investigação mais detalhada sobre a existência de isômeros posicionais e geométricos com funções biológicas distintas, que antes não haviam sido separados ou identificados. A Cromatografia a Gás é a técnica que mais tem sido aplicada ao estudo dos ácidos graxos, devido principalmente ao desenvolvimento de fases estacionárias que possibilitam a separação dos diversos isômeros posicionais e geométricos existentes na mistura (Simionato, 2008).

Os ácidos graxos, por CG, são analisados preferencialmente sob a forma de ésteres metílicos e a eficiência da separação é muito dependente da temperatura de análise e do comprimento da coluna (Ledoux, Laloux e Wolff, 2000). Assim, para que possa ser utilizada esta técnica, é necessário uma derivatização clássica, ou seja, a conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos de ácidos graxos. Esse processo permite que o ácido graxo torne-se menos polar e mais volátil (Fuente, Luna e Juarez, 2006). Os ésteres metílicos de ácidos graxos são os derivados mais utilizados devido à grande quantidade de procedimentos disponíveis na literatura.

Para análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos, são utilizadas geralmente colunas com 50 a 100 m de comprimento, contendo fase estacionária de elevada polaridade. A separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos pode ser realizada em três diferentes tipos de coluna, com fase estacionária apolar, polar e muito polar (Christie, 1998).

No entanto, para análise de ácidos graxos em alimentos, as colunas polar e muito polar são as mais utilizadas porque, evitam a co-eluição dos

ésteres metílicos de ácidos graxos poliinsaturados e permitem uma melhor separação dos isômeros *cis-trans* presentes nas matrizes, baseada na volatilidade desses compostos (Fuente, Luna e Juarez, 2006; Roach *et al.*, 2002).

A derivatização, processo pelo qual as amostras são submetidas para a análise de ácidos graxos por Cromatografia a Gás, pode ter problemas relacionados com a preparação dos ésteres, que são: conversão incompleta dos lipídios aos ésteres metílicos de ácidos graxos, mudança na composição dos ácidos graxos durante a transesterificação, formação de artefatos que podem ser identificados como ácidos graxos, mas não são, sobreposição de picos de ésteres metílicos de ácidos graxos na análise por Cromatografia a Gás, contaminação e, conseqüentemente, dano à coluna cromatográfica proveniente de traços de reagentes esterificantes, extração incompleta de ésteres metílicos de ácidos graxos e perda de ésteres metílicos de cadeia curta e muito voláteis (Milinsk *et al.*, 2008).

Os processos de derivatização mais utilizados para a análise de ácidos graxos são através de uma catálise ácida ou de uma catálise básica. A metilação por catálise básica usando NaOCH<sub>3</sub> ou KOH em metanol, à temperatura ambiente tem sido considerada a determinação de maior confiança para identificação de isômeros conjugados de ácidos graxos, como os do ácido linoléico, porque ela não causa isomerização e não produz artefatos (Simionato, 2008).

Além disso, reduz a perda de ácidos graxos de cadeia curta. Entretanto, o KOH com metanol não é capaz de reagir com ácidos graxos livres e não metila completamente os graxos (Fuente *et al.*, 2006).

A metilação por catálise ácida empregando BF<sub>3</sub>, HCl ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> favorece uma extensiva isomerização de dienos conjugados e contribui para formação de artefatos alílicos metoxilados, além de atrasar a análise cromatográfica (Fuente, Luna e Juarez, 2006).

Quando é utilizada a técnica da cromatografia à gás para análise de alimentos, o detector de ionização de chama é o mais conveniente devido à

quantidade mínima detectável ( $10^{-12}$ g), resposta quase universal, faixa de linearidade e resposta rápida. Apesar de responder a propriedades do soluto, este é sensível ao fluxo de massa que passa por ele. No entanto, a resposta do detector de ionização de chama é diferencial, ou seja, a magnitude do sinal é proporcional ao número de carbono ativo, logo ésteres metílicos com diferentes cadeias carbônicas apresentarão diferentes respostas no detector de ionização de chama (Collins, Braga e Bonato, 2006; Visentainer e Franco, 2006).

Na análise de lipídios por CG faz-se a identificação dos componentes da amostra através da comparação dos tempos de retenção dos compostos com aqueles obtidos através da injeção de padrões contendo as substâncias a serem analisadas. No entanto, este procedimento não é conclusivo, pois componentes diferentes podem ter o mesmo tempo de retenção. Alternativas usadas na identificação são: A) a adição de padrão (*spiking* ou fortificação), B) utilização de padrão secundário, C) métodos gráficos, D) uso de colunas com diferentes polaridades e E) índices sistemáticos de retenção. Dentre estes, o índice de retenção de Kovats é um método que se baseia no comprimento equivalente da cadeia (ECL, do inglês, *Equivalent Chain Length*) e é muito aplicado por ser um método simples, de fácil aplicação e de baixo custo (Visentainer e Franco, 2006).

Na análise por cromatografia a gás com detector de ionização de chama, existem muitos métodos de análise quantitativos. Dentre estas várias metodologias que podem ser usadas, as principais são:

Método da Normalização de Área, o qual se baseia na porcentagem de área relativa de um determinado ácido graxo em relação à área total de todos os ácidos graxos que eluíram da coluna, ou seja, na correlação do somatório de todas as áreas dos componentes obtidos no cromatograma com a área de um determinado ácido graxo (Visentainer e Franco, 2006). Esta metodologia é muito encontrada nas literaturas;

Método de Normalização de área Corrigida, o qual usa fatores de correção para corrigir os valores das respostas do detector (Fator de Resposta do Detector (F) e Fator de Resposta Percentual (Fp));



Padronização Externa, em que é feita uma calibração externa, preparando-se soluções padrões contendo teores conhecidos e aproximados do ácido graxo, ou seu éster metílico correspondente, que se espera obter na amostra. No cromatógrafo, são injetadas estas diferentes soluções separadamente e constrói-se um gráfico de calibração da área obtida para cada solução *versus* a concentração ou massa de um determinado ácido graxo;

Padronização Interna, no qual a amostra analisada e o padrão são injetados juntos e os possíveis erros de injeção ou variações instrumentais ocorrem com ambos, cancelando-se mutuamente. O método consiste em adicionar uma quantidade conhecida de uma substância padrão nas soluções da amostra com o analito a ser analisado. Os padrões internos a serem empregados na quantificação dos ácidos graxos devem possuir alguns requisitos, a saber: não estar presente na amostra, ter alto grau de pureza, estabilidade, ser acessível, de baixo custo, eluir separadamente e próximo dos componentes da amostra (Eder, 1995; Brondz, 2002);

Transformação de Área Percentual de Ésteres Metílicos em Concentração de Ácidos Graxos, metodologia que utiliza fatores de conversão na transformação da porcentagem relativa de um pico cromatográfico de um éster metílico (normalização de área), em quantidade em massa do ácido graxo correspondente. Os resultados comumente são expressos em miligrama ou grama por 100g de alimento ou lipídios totais. O Fator de Conversão (F) é obtido a partir da quantidade em massa de ácidos graxos (valores tabelados) nas diferentes classes de lipídios totais e das diferentes massas destas classes existentes nos lipídios totais de uma determinada amostra de alimento. A quantidade de uma determinada fração ou classe de lipídios, em relação à massa dos lipídios totais (ou em % em massa), pode ser obtida a partir de valores tabelados ou determinada experimentalmente pelo analista (Visentainer e Franco, 2006).

Como alternativa de técnica de separação de ácidos graxos, a espectrometria de massas pode substituir a cromatografia gasosa, dispensando o uso de padrões para identificação ou quantificação, porém,

ainda é uma técnica de alto custo de aquisição e manutenção (Mendham, 2002).

Desta forma, de acordo com o exposto acima, o objetivo deste trabalho foi realizar a identificação e quantificação dos ácidos graxos, através de Cromatografia a Gás com Detecção por Ionização de Chamas, presentes nas seguintes amostras de leites comercializadas em supermercados da cidade de Campinas/SP: Integral, Semidesnatado, Desnatado, Pó integral. Também foi feita a identificação e quantificação dos ácidos graxos presentes nas amostras citadas, a verificação da relação n-6 /n-3 e AGI/AGS dos ácidos graxos identificados nas amostras, a avaliação da variação da quantidade de ácidos graxos entre lotes de cada amostra e entre os tipos de leite estudados e, por final, a comparação das relações encontradas com as da literatura.

### *2.1.1. Métodos de Extração e a Importância dos Ácidos Graxos do Leite na Saúde*

A gordura do leite de vaca é importante constituinte da alimentação, pois fornece ácidos graxos essenciais e vitaminas, principalmente as lipossolúveis (Chen *et al.*, 2004), possui ácidos graxos insaturados (AGI) que são apontados como precursores da lipoproteína de baixa densidade (LDL) que é responsável por doenças cardiovasculares (Parodi,1999).

Também possui ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), poliinsaturados (AGPI) e ácidos graxos conjugados (CLA) em baixas concentrações, mas são considerados alimentos funcionais, auxiliando na redução da incidência de doenças coronarianas, aumento da lipoproteína de alta densidade (HDL) e redução de gordura corporal, além de efeitos anticâncer, antidiabetes e antioxidante (Tonial *et al.*, 2009).

Na atualidade, muitos estudos vêm sendo feitos sobre a composição lipídica do leite de vaca, especialmente sobre a sua composição em ácidos graxos devido ao grande interesse mundial pelos profissionais de saúde para estudos bioquímicos, fisiológicos e nutricionais (Marangoni *et al.*, 2002 & Matsushita *et al.*,2000).

A extração dos lipídios totais é uma etapa crítica nas análises de lipídios totais, especialmente sobre a composição de ácidos graxos, podendo ocorrer erros na análise química, assim como contaminação ou extração inadequada do componente de interesse e conseqüentemente irá remeter a resultados e interpretações errôneas. Durante a extração lipídica, as amostras devem ser preparadas e analisadas cuidadosamente para evitar a oxidação dos lipídios e hidrólises, pois a produção de artefatos pode comprometer a identificação e quantificação dos componentes da fração lipídico (Tonial *et al.*,2009).

Na literatura podem ser encontrados vários métodos de extração de lipídios totais de leite de vaca e de lipídios de outras amostras alimentícias. Na atualidade têm sido desenvolvidos métodos com novas tecnologias que utilizam menos solventes e um intervalo de tempo menor de extração, porém, os métodos mais utilizados no mundo são: Folch *et al.*, (1957) e Bligh Dyer (1959), ambos utilizando os solventes metanol: clorofórmio. No entanto, os volumes de solventes utilizados no método de Folch *et al.* são bem maiores em relação à quantidade utilizada no método de Bligh Dyer. Os solventes utilizados nas extrações devem solubilizar todos os compostos lipídicos e serem suficientemente polares para promoverem as dissociações das membranas celulares ou com lipoproteínas sem que ocorra reações químicas (Christie,1982;Smedes e Askland, 1999). Outros métodos utilizados na extração de lipídios do leite são os métodos Roese-Gotlieb (1990), que é realizado em meio alcalino (hidróxido de amônio) e de Gerber (Laboschagne e Vogt,1960) que envolve um processo de separação físico-químico em meio ácido (ácido sulfúrico).

Tonial *et al.*, (2009) realizaram a avaliação de diferentes métodos de extração lipídica sobre a composição de ácidos graxos de leite de vaca e os resultados obtidos demonstraram que as diferentes metodologias de extração de lipídios existentes, influenciaram decisivamente nos resultados da composição quantitativa de ácidos graxos e as avaliações indicaram o método de Bligh Dyer como o melhor e o método de Gerber como o pior na determinação quantitativa de ácidos graxos em leite de vaca, principalmente os poliinsaturados.

Desta forma, a extração de lipídios totais das amostras de leite UHT de vaca integral, semidesnatado e desnatado e pó integral foi feita pelo método de Bligh Dyer. A quantificação de gordura destas amostras foi feita através de cálculo e o valor final foi fornecido em relação gramas de gordura por 100 mL de amostra.

Nos padrões atuais de consumo, tem sido dada mais importância a baixos teores de gordura e altos teores de proteínas no leite, pois, doenças cardíacas, câncer de cólon e outras enfermidades eram atribuídas há alguns anos aos ácidos graxos do leite. No entanto, diversos trabalhos têm revelado importantes funções de alguns lipídios. Por exemplo, o ácido linoléico presente no leite, atua na inibição do câncer e de aterosclerose, na melhoria das funções imunológicas, nos efeitos de atração do ácido butírico para a eliminação de células cancerosas do cólon, e na função regulatória celular dos fosfolipídios da membrana plasmática (González, Durr, Fontanelli, 2001)

Tabela 2.1. Ácidos graxos presentes no leite e a função atribuída na manutenção da saúde.

<b>Componentes</b>	<b>Função atribuída</b>
Ácido Gama-amino-butírico	Antihipertensivo
Ácido Butírico	Eliminação de células cancerosas do Cólon
Ácidos graxos omega 3	Previnem enfermidades coronarianas e ataques cardíacos Desenvolvimento da retina e do cérebro Prevenção de disfunções autoimunes Prevenção de doença de Crohn Prevenção de câncer de mama, cólon e próstata Regulação da hipertensão Prevenção de artrite reumatóide
Ácido linolênico Conjugado	Inibição de câncer Inibição de aterosclerose Melhoramento do sistema imunológico Antimutagênico
Esfingolipídios da membrana	Regulação do comportamento celular Controle do câncer de cólon Redução das lipoproteínas de baixa densidade Aumento das lipoproteínas de alta densidade
Produtos metabólicos de triglicérides e fosfolipídeos	Atividades antimicrobianas e antivirais
Ácidos graxos de cadeia curta e fosfolipídeos	Prevenção contra enteropatógenos Efeito protetor contra úlceras gástricas Defesa contra <i>Listeria</i>

(Fonte: González, Durr e Fontanelli., 2001)

Existem muitos trabalhos e estudos sendo realizados na área de nutrição animal, com a atenção voltada à composição de ácidos graxos de leite de vaca e cabra, mas principalmente de vaca. O objetivo destes diversos estudos é variar a alimentação do animal com diferentes componentes e, a partir daí, verificar a influência que apresentam na composição de ácidos graxos do leite deste animal.

Nestes trabalhos, o estudo é feito com o leite cru, *in natura*, diretamente coletado do animal em diversos momentos do dia e períodos pré-determinados para estudar a composição de ácidos graxos. Porém, não foi encontrada literatura que realizasse estudos com o leite UHT, diretamente dos centros de compras, que é o tipo de leite mais consumido pela população. Também, não foram encontrados trabalhos que discutissem a composição de ácidos graxos de leites com composição de gordura reduzida (desnatado e semidesnatado). Desta forma, foi decidido fazer este tipo de estudo no presente trabalho.

O leite, de modo geral, é um alimento presente na rotina alimentar de grande parte da população. De acordo com estudo multicêntrico sobre consumo alimentar realizado pelo Ministério da Saúde em 1997 (Galeazzi, Domene, Schieri, 1997), o consumo de leite é importante para todas as famílias, ocupando entre a 3<sup>a</sup> e a 10<sup>a</sup> posições. É interessante notar a grande participação do leite em pó, decrescente com o aumento da renda. O leite desnatado é preferido pelos consumidores na maioria das vezes com o objetivo de reduzir o consumo de gorduras, principalmente os saturados de cadeia curta que são preponderantes para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Zambom, Santos, Modesto, 2008). Porém, com relação aos ácidos graxos de cadeia curta, é interessante atentar-se ao ácido butírico, muito abundante no leite. Segundo Parodi (1997), apesar de o ácido butírico ser uma molécula de natureza simples, desempenha diversas funções importantes no organismo animal. Age como potente agente mutagênico, inibe uma série de células cancerígenas, tem ação anti-proliferativa, a qual é realçada pelo sinergismo com ácido retinóico ou vitamina D.

De acordo com Palmquist e Mattos (2006), a composição de ácidos graxos de ruminantes é particularmente distinta, já que é caracterizada por conter

ácidos graxos de cadeia curta e baixa quantidade de ácidos graxos insaturados.

A produção dos ácidos graxos presentes no leite dos ruminantes acontece de acordo com vários mecanismos bioquímicos complexos dentro das organelas celulares, mas o conhecimento destes mecanismos celulares deve ser aliado ao tipo de consumo de alimentos, fase de lactação, condições meteorológicas, etc, que irão repercutir no desempenho animal. Como exemplo deste fato, a tabela 2.2 apresenta a composição de ácidos graxos do leite de diferentes espécies, visto que a presença ou ausência de determinado metabólito pode causar alterações consideráveis no leite. Em seguida, a tabela 2.3., apresenta alguns fatores e como cada um deles influencia na composição da gordura do leite.

Tabela 2.2.: Perfil de ácidos graxos da gordura do leite de várias espécies (em g/100g).

Ácidos graxos	Vaca	Cabra	Ovelha	Camela	Égua	Porca	Coelha	Mulher
4:0	4,5	2,6	4,7	0,7	--	--	--	--
6:0	2,3	2,6	3,3	0,4	--	--	--	--
8:0	1,3	3,1	3,4	0,2	6,9	--	27,3	--
10:0	2,7	9,8	9,2	0,9	19,0	<1	23,0	1,4
12:0	3,0	5,2	5,4	0,8	8,3	<1	3,3	5,7
14:0	10,6	9,9	11,6	12,5	4,3	4,0	2,2	6,4
14:1	0,9	--	0,4	1,1	--	--	--	--
16:0	28,2	27,6	22,8	31,5	18,3	32,9	13,3	18,9
16:1	1,8	2,2	1,9	9,4	5,0	11,3	1,8	--
18:0	12,6	8,0	11,0	12,5	1,3	3,5	2,9	6,7
18:1	21,4	22,2	23,5	19,1	10,7	35,2	11,8	32,5
18:2	2,9	3,3	2,0	3,4	7,7	11,9	8,2	16,2
18:3	0,3	0,9	1,1	1,4	4,7	<1	2,1	0,3

( Fonte: Palmquist e Mattos, 2006)

Tabela 2.3.: Fatores e sua influência na variação na gordura do leite

Item influenciador	Varição da gordura
Características individuais	1 - 2%
Raça	Holtejs < Ayshire < Canadense < Guernsey < Jersey
Período de lactação	Diminui nos primeiros meses
Alimentação	Aumenta com tiroxina e lipídios encapsulados
Temperatura	Inversamente proporcional
Estação	Máximo no inverno
Saúde	Diminui durante os estados patológicos
Idade	Diminui com a idade
Exercício	Aumenta de 0,2 - 0,3%
Quarto do úbere	Pode variar até 1%
Hora da ordenha	De tarde é mais rica

Fonte: Varnam e Sutherland, 1994

A gordura do leite é sintetizada a partir dos ácidos graxos obtidos de diversas fontes. A síntese que ocorre na glândula mamária dos animais é apenas de ácidos graxos de cadeia curta. No caso dos ácidos graxos de cadeia média, apenas 50% é sintetizado pela vaca, o restante é oriundo de ácidos pré-formados. E, os ácidos graxos de cadeia longa e os 50% restante dos ácidos graxos de cadeia média chegam à glândula mamária através da circulação sanguínea. Desta forma, um dos fatores que influenciam o perfil de ácidos graxos no leite, é o perfil de ácidos graxos presentes na dieta do animal e esta fator é de grande importância.

## 2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

### *2.2.1. Extração da Gordura Total das Amostras de Leite Analisadas*

- **Reagentes:** foram utilizados para a extração clorofórmio P.A. (Synth, Brasil), metanol P.A. (ECIBRA, Brasil), Sulfato de Sódio anidro (ECIBRA, Brasil) e solução de Sulfato de Sódio 1,5% preparada no momento do uso da seguinte forma: em balão volumétrico de 100 mL foi transferido 1,5 gramas de Sulfato de Sódio anidro previamente diluído em uma alíquota da água destilada e, então, o balão foi completado para 100 mL com mais água destilada e homogeneizado adequadamente.

- **Amostras:** as amostras de leite de vaca UHT integral, semidesnatado e desnatado e em pó integral foram adquiridas de supermercados da cidade de Campinas/SP. Foram adquiridas três marcas de cada tipo de leite, sendo dois lotes de cada uma delas. Foi feita a homogeneização de duas unidades de leite de cada lote para melhorar a representatividade e foram feitas triplicatas de cada replicata. Na tabela 2.1 apresentada abaixo, constam algumas informações sobre a composição lipídica de cada tipo de leite analisado consideradas importantes para o trabalho.

Tabela 2.4. Informações contidas nas embalagens dos tipos de leite analisados.

Marca	Tipo de leite	Gordura total	Estado de Origem
<b>Leite de Vaca</b>			
1	Integral	6,4 g / 200 mL	SP
2	Integral	6,0 g / 200 mL	GO
1	Semidesnatado	2,0 g / 200 mL	RS
2	Semidesnatado	2,0 g / 200 mL	SP
1	Desnatado	0,4 g / 200 mL	SP
2	Desnatado	1,0 g / 200 mL	SP
1	Em pó	6,8 g / 26 g*	PR
2	Em pó	7,1 g / 26 g*	GO

\*Correspondente à quantidade necessária de pó para preparar um copo de 200 mL.

- **Metodologia de Bligh Dyer:** na metodologia de Bligh Dyer, deve ser levada em consideração a quantidade de água, ou seja, o teor de umidade da amostra. O leite é uma matriz alimentícia composta de 80% a 90% de água em seu conteúdo total. Desta forma, na metodologia oficial, a adição de água foi substituída pelo leite líquido a fim de manter a proporção de 1:2:0,8 de clorofórmio:metanol:água, proporção esta que mantém todos os solventes em solução homogênea (Cecchi, 2003).

Na análise de leite em pó, a literatura recomenda adição de 2,00 a 5,00 gramas para a análise de gordura deste produto, pois ele possui teor de gordura de 20% ou mais (Cecchi, 2003). Porém, neste trabalho, o leite em pó foi preparado conforme as instruções dos fabricantes das marcas analisadas e depois substitui a água, assim como foi feito para o leite líquido *in natura*, na metodologia de extração.

Assim, a extração de gordura pelo método de Bligh Dyer é feita da seguinte forma: em um tubo de ensaio de capacidade de 70 mL foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 8 mL de leite líquido e 20 mL de metanol. Foi feita agitação por 30 minutos e, depois, adicionado mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução 1,5% de Sulfato de Sódio e a solução foi submetida a mais 2 minutos de agitação. Após a agitação, ocorreu a separação de duas camadas: a superior, composta de água+metanol+componentes solúveis e a inferior, composta de clorofórmio+lipídios totais. Através de um sistema de vácuo montado com um Kitassato, uma mangueira e uma ponteira de micropipetagem, conectados a uma saída de água. A camada superior de



água e metanol foi sugada de modo que permanecesse apenas a camada de clorofórmio e lipídios. Este extrato lipídico foi filtrado em um tubo de ensaio de capacidade de 30 mL através de papel de filtro contendo uma espátula cheia de Sulfato de Sódio Anidro para retirar eventuais resquícios de água do extrato lipídico, até que este ficasse totalmente límpido.

Depois, em outro tubo de ensaio de 30 mL previamente tarado e seco em estufa, foi adicionada uma alíquota de 10 mL do extrato lipídico e o clorofórmio foi evaporado com atmosfera de gás nitrogênio. Este procedimento foi realizado, pois, como esta gordura extraída foi utilizada posteriormente para a quantificação de ácidos graxos por cromatografia a gás, a evaporação tradicional do clorofórmio feita em estufa a uma temperatura de 100°C causaria a destruição dos ácidos graxos de cadeia curta. Desta forma, a evaporação sob atmosfera de nitrogênio gasoso foi considerada a melhor opção para conservar estes componentes lipídicos. A quantidade de lipídicos totais extraídos será feito através do seguinte cálculo:

$$\frac{(P_{tubo+lípido\ seco} - P_{tubo}) \times V_{clorofórmio} \times 100}{V_{clorofórmio+gordura} \times P_{amostra}}$$

(Burja *et al.*, 2007).

### 2.2.2. Reagentes utilizados para Preparo dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos

Foram usados Éter Dietílico UV/HPLC (VETEC), Metóxido de Sódio em 30% de Metanol (VETEC), Solução de Cloreto de Sódio Saturado (Dinâmica Química Contemporânea Ltda.), Isooctano P.A. (Dinâmica Química Contemporânea Ltda.) e Metanol P.A. (ECIBRA, Brasil).

### 2.2.3. Preparo dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos - Derivatização

Foram pesados em um tubo de ensaio de capacidade de 3,0mL aproximadamente 150 mg dos lipídios extraídos das amostras de leite. Foi adicionado 5,0 mL de uma solução de metóxido de sódio 0,25 mol/l em metanol dietil – éter (1:1). Procedeu-se uma vigorosa agitação por 3 minutos. Nesta

etapa, ocorreu a metilação dos ácidos graxos livres catalisada pelo  $\text{NaOCH}_3$ . Posteriormente, foi adicionado 3,0 mL de Isooctano grau HPLC e 15 mL de solução de Cloreto de Sódio Saturado. Foi realizada novamente vigorosa agitação. Após alguns minutos de repouso, ocorreu a separação das fases. O sobrenadante foi coletado em frasco de vidro âmbar para ser feita a análise no cromatógrafo gasoso. Este procedimento de preparo dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi adaptado de Bannon *et al.*, (1982) com modificações, assim como também foi feito por Simionato (2008). A metodologia original realiza um rápido aquecimento sob refluxo após adição do reagente transesterificante, mas este procedimento não foi realizado para não isomerizar os dienos conjugados. A metilação (derivatização) por catálise básica, como esta metodologia utilizando o  $\text{NaOCH}_3$  como catalisador, se mostrou a técnica mais confiável de identificação de ácidos graxos de gorduras derivadas de matrizes animais, como é o caso do leite, uma vez que não produz isomerização e artefatos. Também, reduz a perda de ácidos graxos de cadeia curta que estão presentes em grande quantidade no leite (Simionato *et al.*, 2009).

Foram realizadas 10 derivatizações da mesma amostra, calculando-se o coeficiente de variação (CV) para cada um dos ésteres analisados para avaliar a repetibilidade do procedimento de preparo dos FAME's.

#### ***2.2.4. Análise Cromatográfica: Identificação e Quantificação dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos***

A análise dos ácidos graxos foi feita pela técnica de cromatografia gasosa, em um equipamento SHIMADZU GC 2010 PLUS com FID 2010 PLUS e injetor automático SPL 2010 PLUS, utilizando a metodologia 053/IV do Compêndio Métodos Físico – Químicos de Análise de Alimentos do Instituto Adolf Lutz, edição digital de 2008.

De acordo com esta metodologia, os ésteres metílicos de ácidos graxos formados são determinados por cromatografia em fase gasosa utilizando como padrão interno metiltridecanoato.

O método permite uma separação quantitativa de misturas de ésteres metílicos de ácidos graxos saturados e insaturados, inclusive dos ácidos

graxos *trans*, dependendo da coluna, condições cromatográficas e dos padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos empregados. A quantificação é feita baseada nas relações de área de cada ácido graxo com a área do padrão interno, utilizando os fatores de correção de resposta do detector de ionização de chama (DIC) e de conversão de ésteres metílicos de ácidos graxos para ácido graxo.

Como uma alternativa, o cálculo da concentração dos ácidos graxos saturados e insaturados, pode ser feito por normalização de área, calculando os fatores de correção de resposta para cada ácido graxo no detector de ionização de chama. As porcentagens em massa obtidas para cada éster metílico de ácido graxo são multiplicadas pelo teor de lipídios da amostra e por fatores de conversão de gordura para ácidos graxos, variáveis conforme o tipo de alimento. Este procedimento de cálculo aplica-se principalmente aos alimentos cujos lipídios extraídos sejam predominantemente de um dos tipos de alimentos cujos fatores de conversão foram estabelecidos. Os lipídios dos alimentos (gordurosos) são essencialmente ésteres de ácidos graxos e glicerol com pequenas quantidades de outros componentes como: fosfolipídios, glicolipídios, esteróis e outros compostos extraídos com solventes orgânicos. Deve-se adotar, preferencialmente, o método de cálculo com padrão interno.

#### **2.2.4.1. Material:**

- Cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama, com computador, coluna cromatográfica capilar de sílica fundida com fases estacionárias de Ciano Propil Siloxano (SP2560 de 100 m), diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme 0,25  $\mu\text{m}$ , sistema de injeção com divisão de amostra (SPLIT);
- Balança analítica;
- Agitador do tipo vórtex;
- Seringa de capacidade máxima 10  $\mu\text{L}$ , graduada em 0,1  $\mu\text{L}$  HAMILTON;
- Balão volumétrico de 25 e 100 mL;
- Flaconete (*vial*) de 1,5 mL;
- Pipeta volumétrica de 5 mL;
- Pipeta graduada de 1 mL.

#### 2.2.4.2. Reagentes

- Mistura de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos variando de C4 a C24;
- Padrão interno C13 (metiltridecanoato);
- Gás de arraste para DIC: hidrogênio;
- Gás auxiliar para DIC: nitrogênio;
- Solução-padrão de mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos, contendo 100 mg da mistura de padrões de FAME's do C4 ao C24 (FAME Mix, Supelco, EUA).
- Solução-padrão interno C13:0 – Supelco – EUA;

O conteúdo da ampola foi diluído em balão volumétrico de 25 mL com Isooctano grau CLAE (mesmo solvente utilizado no processo de derivatização) e distribuído em *vials* de 1,5 mL. Esta solução foi utilizada para identificar os ésteres metílicos de ácidos graxos e determinar os fatores de correção de cada componente.

Foi pesado, com precisão, cerca de 250 mg de metiltridecanoato em balão volumétrico de 100 mL, dissolvido e completado o volume com Isooctano. Esta solução pode ser armazenada em frasco de vidro âmbar e guardada em geladeira (validade 1 semana) ou em *freezer* (validade 1 ano).

#### 2.2.4.3. Procedimento

As condições de operação do cromatógrafo gasoso com detector de ionização foram as seguintes: programação da temperatura da coluna: 45°C por 4 min, primeira rampa de 13°C/min até 175°C (27 min), segunda rampa de 4°C/min até 215°C (35 min), temperatura do injetor 220°C, temperatura do detector 220°C, razão de divisão da amostra 1:50.

O cálculo experimental para os fatores de correção do DIC foi feito da seguinte maneira: foi injetado em triplicata 1 µL da solução-padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos. Os picos foram identificados e determinados seus fatores de correção ( $K'$ ) individuais com relação ao éster metílico do ácido tridecanóico (13:0) utilizando a equação abaixo:

$$\frac{M_{AG} \times A_{C13:0}}{M_{C13:0} \times A_{AG}} = K'$$

Onde:

$M_{AGi}$  = porcentagem do ácido graxo na mistura de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos;

$A_{13:0}$  = média das áreas do pico do éster metílico do C13:0;

$M_{13:0}$  = porcentagem do éster metílico do C13:0 na mistura de padrões;

$A_{AGi}$  = média das áreas do ácido graxo na mistura de padrões.

Cálculo teórico:

$$\frac{M_{Agi}}{(N_{Agi} - 1)A_c} = K_{Agi}$$

Onde:

$K_{Agi}$  = fator de resposta para o ácido graxo “i”;

$M_{Agi}$  = massa molecular do éster metílico de ácido graxo “i”;

$n_{Agi}$  = número de átomos de carbono do éster metílico do ácidos graxo “i”;

$A_c$  = massa atômica do carbono (12,01).

Pesos atômicos utilizados no cálculo:

Carbono =12,01; Hidrogênio = 1,0079; Oxigênio =15,994.

Fator relativo de resposta do DIC para cada componente com relação ao 13: 0:

$$\frac{K_{Agi}}{K_{C13}} = K'_{AGit}$$

Onde:

$K'_{AGi}$  = fator relativo de correção, para o ácido graxo “i”;

$K_{13:0}$  = fator de resposta do DIC para o 13:0;

$K_{AGi}$  = fator de resposta do DIC para o ácido graxo “i”.

Para a determinação da concentração de ácidos graxos na amostra, foi injetado 1 µL da amostra no cromatógrafo a gás, utilizando microseringa de 10 µL. Os picos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos com os componentes separados da amostra. A concentração de cada ácido graxo foi determinada utilizando a equação abaixo:

Cálculo com Padrão Interno:

$$\frac{M_{PI} \times M_{AGi} \times K'_{AGi} \times FC_{AG} \times L \times 100}{M \times A_{PI}} = C_{AGi} \left( \frac{g}{100g} \text{ da amostra} \right)$$

Onde:

$M_{PI}$  = massa do padrão interno (C13:0) adicionada na amostra;

$A_{AGi}$  = área do ácido graxo no cromatograma da amostra;

$K'_{AGi}$  = fator de correção de cada ácido graxo com relação ao C13:0 (teórico ou experimental);

$FC_{AG}$  = fator de conversão de éster metílico de ácido graxo (Tabela 5.1, em anexos);

$L$  = teor de lipídios em gramas por 100 g de amostra;

$M$  = massa da amostra;

$A_{PI}$  = área do padrão interno (13:0) no cromatograma da amostra;

Depois, foi realizado o cálculo com o fator de conversão, cujo valor para leite e produtos lácteos é ( $FC_v = 0,945$ ).

$$\text{Conc.}_{AGi} = \frac{(K'_{AGi} \times \%A_{AGi})}{\sum(K_{AGi} \times \%A_{AGi})} \times L \times FC_v \left( \frac{g}{100g} \text{ amostra} \right)$$

Onde:

$\text{Conc}_{AGi}$  = concentração do ácido graxo em gramas por 100 g da amostra

$\%A_{AGi}$  = porcentagem de área do ácido graxo no cromatograma da amostra

$K'_{AGi}$  = fator de correção de resposta de cada ácido graxo com relação ao 13:0 (teórico ou experimental)

$FC_v$  = fator de conversão de gordura para os ácidos graxos

L = teor de lipídios na amostra em gramas por 100 g da amostra

E, finalmente, para expressar a concentração dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, em gramas por 100 g de amostra, utilizou-se o cálculo abaixo:

$\Sigma$ AGS= Somatório da concentração de ácidos graxos saturados;

$\Sigma$ AGM= Somatório da concentração de ácidos graxos monoinsaturados;

$\Sigma$ AGP= Somatório da concentração de ácidos graxos poliinsaturados;

$\Sigma$ AGT= Somatório da concentração de ácidos graxos trans.

### *2.2.5. Análise Estatística*

Foi realizado o Teste de Tuckey para fazer a comparação das médias dos resultados, a 95% de confiança, através do software SAS (SAS, 2002). O Teste de Tukey é um dos testes de comparação de médias mais utilizados por ser bastante rigoroso e de fácil aplicação.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extração dos lipídios das amostras de leite analisadas obteve como resultado os valores descritos na tabela abaixo. De acordo com os dados descritos na tabela 2.1, que descreve as informações contidas nas embalagens dos leites analisados, os valores encontrados na extração pelo método de Bligh Dyer não se encontram muito discrepantes dos informados pelo fabricante.

Tabela 2.5: Composição de lipídios totais das amostras de leite de vaca em g/100 mL de amostra.

		<b>Lote 1</b>	<b>Lote 2</b>	<b>Lote 3</b>
<b>Leite Integral em Pó</b>	<b>Marca 1</b>	7,18 ± 0,30	3,23 ± 0,07	3,32 ± 0,05
	<b>Marca 2</b>	3,17 ± 0,09	3,49 ± 0,17	3,46 ± 0,06
<b>Leite Integral UHT</b>	<b>Marca 1</b>	2,77 ± 0,10	3,54 ± 0,17	3,21 ± 0,15
	<b>Marca 2</b>	2,78 ± 0,12	3,43 ± 0,06	3,36 ± 0,10
<b>Leite Semidesnatado UHT</b>	<b>Marca 1</b>	1,26 ± 0,09	1,22 ± 0,02	1,33 ± 0,04
	<b>Marca 2</b>	1,18 ± 0,10	1,15 ± 0,03	1,31 ± 0,01
<b>Leite Desnatado UHT</b>	<b>Marca 1</b>	0,59 ± 0,02	0,57 ± 0,02	0,53 ± 0,02
	<b>Marca 2</b>	0,77 ± 0,04	0,53 ± 0,02	0,55 ± 0,00

Com relação ao objeto de estudo deste trabalho (leite UHT e leite em pó integral), procurou-se atentar ao fato da existência de influência do tratamento térmico sobre a composição de ácidos graxos do leite, já que existem alguns ácidos graxos mais voláteis que outros. Porém, o tratamento térmico, é a única maneira de tornar o leite próprio para consumo humano. Por outro lado, este tipo de processamento altera o teor de nutrientes, principalmente o de vitaminas hidrossolúveis e também provoca alterações nas características sensoriais que variam em ambos os casos em função do tempo e temperatura de tratamento, sendo maiores nos tratamentos mais severos. De acordo com Rocha (2004), não ocorrem mudanças significativas no valor nutritivo de gordura, lactose e sais minerais durante o processamento UHT, mas existem pequenas mudanças no valor nutricional de proteínas, aminoácidos e vitaminas. Mas na maioria dos casos, essas perdas são pequenas e pouco importantes, sendo as modificações no tratamento UHT maiores. Além disso, de acordo com Souza *et al.* (2003), em estudo realizado para avaliar a composição e o perfil dos ácidos graxos de leite de vaca antes e após o processo de pasteurização rápida, concluiu-se que não ocorre alteração na composição do leite cru após passar por este processo.

Na análise feita no leite desnatado, na marca 1, foram encontradas diferenças significativas entre os três lotes avaliados com relação aos



seguintes ácidos graxos: 10:0 (ácido cáprico), 12:0 (ácido láurico), 13:0 (ácido tridecanoico), 14:0 (ácido mirístico), 15:0 (ácido pentadecanoico), 16:1(ácido palmitoleico), 18:2n-6c (ácido linoleico), 18:3n-3c (ácido linolênico). Esta diferença também foi encontrada na somatória dos saturados, poliinsaturados, ômega-6, relação n-6/n-3, somatório de cadeias curtas. Os resultados são apresentados na tabela 2.6. (Marca 1) e 2.7 (Marca 2).

Na marca 2 de leite desnatado, ocorreram diferenças significativas entre todos os ácidos graxos saturados dos três lotes e nos seguintes insaturados: 14:1(ácido miristoleico),16:1(ácido palmitoleico), 18:1n-9c (ácido oleico), 18:2n-6c (ácido linoleico), 18:3n-3c (ácido linolênico), 20:5n-3 (ácido cis-eicosapentanoico - EPA), além de diferenças no somatório dos AGS, AGMI, n-3, C4-C12, C13-C17, C18.

Estas diferenças podem ter ocorrido por vários motivos, dentre os quais citados na tabela 2.3., segundo Varnam e Sutherland (1994). Dentre estes fatores citados na tabela, o principal deles se relaciona à alimentação dada ao animal, que se converte em ácidos graxos no leite através de mecanismos bioquímicos complexos.

Na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (LIMA *et al.*, 2006), os ácidos graxos que foram encontrados em maiores quantidades foram 12:0 (0,02g/100g), 14:0 (0,09g/100g), 16:0 (0,29g/100g), 18:0 (0,12g/100g),22:0 (0,01g/100g), no grupo dos saturados e no grupo dos insaturados foram 14:1 (0,01g/100g), 16:1 (0,02g/100g), 18:1(0,20), 18:2n-6 e 18:1t (0,02). Relacionando com os valores obtidos nas amostras analisadas, estes se encontram próximos, mas com ausência dos *trans* 18:1t nas marcas analisadas.

Com relação aos ácidos graxos essenciais, aqueles que devem ser adquiridos através da dieta, EPA e DHA, o leite desnatado contribui pouco ou quase nada para a ingestão diária necessária que segundo Gerster (1997) deve ser de 1,25g por dia o consumo total de EPA+DHA. Porém, a relação n-6/n-3 se encontra próxima à recomendada como máxima de 4 pelo Department of Health (1994). O segundo lote das duas marcas apresentaram valores mais altos que o recomendado, 7,37 e 8,61, respectivamente. O provável motivo é a

alimentação fornecida ao animal, através de contato feito com os fabricantes de ambas as marcas, foi possível obter esta informação. O produtor do leite de marca 1 informou que fornece pastagem na época de mais chuva e ração com farelo de milho e caroço de algodão e soja e no inverno complementação com cana de açúcar, silagem de milho e sorgo), já o produtor da marca 2 informou que fornece pastagem, silagem e ração ao seu rebanho leiteiro, mas não informou a composição dos mesmos.

O leite de gado que consome pasto possui mais ácidos graxos insaturados que o que se alimenta de grãos e silagem (Paschoal *et al.*,2007).

A somatória dos ácidos graxos de cadeia média foi relativamente alta em ambas as marcas avaliadas, mesmo sendo um leite com reduzido valor de gordura. Os ácidos graxos de cadeia média são considerados por médicos e nutricionistas como fonte de risco para a saúde humana por estarem relacionados à formação de ateromas – placas de gordura depositadas no interior das artérias, que podem causar infarto ou derrame cerebral (Martin *et al.*, 2006).

Tabela 2.6: Ácidos graxos presentes no Leite Desnatado - Marca1.

Ácidos Graxos (mg/100mL)	Lote 1 (mg/100 mL)	Lote 2 (mg/100 mL)	Lote 3 (mg/100 mL)
4:0	35,31 ± 2,08 <sup>a</sup>	32,76±0,42 <sup>a</sup>	32,32± 2,07 <sup>a</sup>
6:0	16,03 ± 0,69 <sup>a</sup>	15,43±0,60 <sup>a</sup>	15,06±0,26 <sup>a</sup>
8:0	8,69 ± 0,39 <sup>a</sup>	8,43±0,30 <sup>a</sup>	7,99±0,21 <sup>a</sup>
10:0*	16,87 ± 0,53 <sup>a</sup>	16,93±0,45 <sup>a</sup>	15,24±0,48 <sup>a,b</sup>
11:0	2,73 ± 0,15 <sup>a</sup>	2,68±0,15 <sup>a</sup>	2,48±0,10 <sup>a</sup>
12:0*	19,85 ± 0,56 <sup>a</sup>	19,54±0,76 <sup>a</sup>	17,79±0,72 <sup>a,b</sup>
13:0*	1,78 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,82±0,14 <sup>a</sup>	1,39±0,03 <sup>a,b</sup>
14:0*	67,53 ± 1,90 <sup>a</sup>	63,46±1,99 <sup>a, b</sup>	58,97±2,97 <sup>b</sup>
14:1*	8,73 ± 0,31 <sup>a</sup>	7,70±0,27 <sup>b</sup>	6,96±0,48 <sup>b</sup>
15:0*	8,68 ± 0,30 <sup>a</sup>	7,73±0,22 <sup>b</sup>	7,09±0,48 <sup>b</sup>
16:0*	179,73 ± 5,10 <sup>a</sup>	174,26±5,73 <sup>a</sup>	154,09±8,41 <sup>b</sup>
16:1*	14,41 ± 0,55 <sup>a</sup>	13,48±0,42 <sup>a</sup>	11,74±0,64 <sup>b</sup>
17:0	4,70 ± 0,29 <sup>a</sup>	3,23±2,02 <sup>a</sup>	3,76±0,15 <sup>a</sup>
18:0	67,45 ± 2,17 <sup>a</sup>	63,11±2,13 <sup>a</sup>	61,92±3,27 <sup>a</sup>
18:1n-9c	128,72 ± 3,24 <sup>a</sup>	122,75±4,00 <sup>a</sup>	119,56±6,10 <sup>a</sup>
18:2n-6c*	6,9 ± 0,02 <sup>a</sup>	9,70±0,85 <sup>a</sup>	9,61±0,70 <sup>b</sup>
18:3n-3c*	2,66 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,46±0,23 <sup>b</sup>	1,93±0,08 <sup>b</sup>
20:0	1,14 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,19±0,05 <sup>a</sup>	1,21±0,11 <sup>a</sup>
20:3n-3	0,68 ± 0,59 <sup>a</sup>	1,02±0,11 <sup>a</sup>	1,15±0,22 <sup>a</sup>
20:3n-6	0,68 ± 0,59 <sup>a</sup>	1,02±0,11 <sup>a</sup>	1,15±0,22 <sup>a</sup>
20:4n-6	0,79 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,86±0,06 <sup>a</sup>	1,04±0,15 <sup>a</sup>
20:5n-3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,14±0,24 <sup>a</sup>	0,28±0,48 <sup>a</sup>
22:1n-9	0,1 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,13±0,11 <sup>a</sup>	0,49±0,20 <sup>a</sup>
23:0	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,75±0,00 <sup>a</sup>
24:0	0,49 ± 0,13 <sup>a</sup>	0,53±0,32 <sup>a</sup>	0,5±0,06 <sup>a</sup>
AGS*	430,98±14,23 <sup>a</sup>	411,1±13,22 <sup>a,b</sup>	380,57±14,45 <sup>b</sup>
AGMI.	151,95 ± 4,13 <sup>a</sup>	144,06± 4,73 <sup>a</sup>	138,75±6,95 <sup>a</sup>
AGPI*	11,03 ±0,76 <sup>a</sup>	13,17±0,97 <sup>a,b</sup>	14,02±1,34 <sup>b</sup>
AGI/AGS*	0,38 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,38±0,01 <sup>b</sup>	0,40±0,01 <sup>b</sup>
n-3*	2,50 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,60±0,22 <sup>a</sup>	2,54±0,98 <sup>a</sup>
n-6*	8,37 ± 0,63 <sup>a</sup>	11,58±0,97 <sup>a</sup>	11,81±0,99 <sup>b</sup>
n-6/n-3*	3,36 ± 0,35 <sup>a</sup>	7,37±1,32 <sup>a,b</sup>	5,41±0,62 <sup>b</sup>
C4-C12*	99,48 ± 4,36 <sup>a</sup>	95,79±1,83 <sup>a,b</sup>	90,89±0,95 <sup>b</sup>
C13-C17*	285,56± 8,41 <sup>a</sup>	271,68±9,67 <sup>a</sup>	244,01±13,07 <sup>b</sup>
C18	205,72 ± 5,18 <sup>a</sup>	197,02±7,17 <sup>a</sup>	193,03±9,88 <sup>a</sup>

\* elementos com valor de Pr>F menor que 0,05 (existência de diferença significativa entre os lotes).

Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes.

AGS= Ácidos Graxos Saturados; AGMI= Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI= Ácidos Graxos Poliinsaturados

Tabela 2.7.: Ácidos graxos presentes no Leite Desnatado–marca 2.

Ácidos Graxos (mg/100mL)	Lote 1 (mg/100 mL)	Lote 2 (mg/100 mL)	Lote 3 (mg/100 mL)
4:0*	44,89±4,11 <sup>a</sup>	31,17±5,61 <sup>b</sup>	29,36±0,71 <sup>b</sup>
6:0*	21,76±1,21 <sup>a</sup>	13,97±1,95 <sup>b</sup>	14,94±0,30 <sup>b</sup>
8:0*	11,65±0,57 <sup>a</sup>	7,75±0,88 <sup>b</sup>	8,23±0,15 <sup>b</sup>
10:0	22,60±1,09 <sup>a</sup>	15,37±1,40 <sup>b</sup>	16,37±0,32 <sup>b</sup>
11:0	3,54±0,15 <sup>a</sup>	2,46±0,25 <sup>b</sup>	2,6±0,10 <sup>b</sup>
12:0*	26,39±1,10 <sup>a</sup>	17,96±1,46 <sup>b</sup>	19,31±0,40 <sup>b</sup>
13:0*	2,21±0,08 <sup>a</sup>	1,57±0,12 <sup>b</sup>	1,72±0,06 <sup>b</sup>
14:0*	86,73±4,25 <sup>a</sup>	57,49±4,09 <sup>b</sup>	62,62±0,57 <sup>b</sup>
14:1*	10,45±0,61 <sup>a</sup>	7,05±0,46 <sup>b</sup>	7,73±0,23 <sup>b</sup>
15:0*	10,95±0,51 <sup>a</sup>	6,74±0,37 <sup>b</sup>	7,38±0,22 <sup>b</sup>
16:0*	234,19±9,49 <sup>a</sup>	156,44±10,35 <sup>b</sup>	172,87±0,83 <sup>b</sup>
16:1	17,75±0,59 <sup>a</sup>	12,06±0,69 <sup>b</sup>	13,58±0,33
17:0*	6,11±0,28 <sup>a</sup>	3,49±0,45 <sup>b</sup>	4,13±0,03 <sup>b</sup>
17:1	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	18,77±32,52 <sup>a</sup>
18:0	89,93±3,49 <sup>a</sup>	50,70±3,27 <sup>b</sup>	77,32±36 <sup>a</sup>
18:1n-9c	162,73±7,29 <sup>a</sup>	107,69±6,83 <sup>b</sup>	82,86±62,42 <sup>a</sup>
18:2n-6c	11,48±0,56 <sup>a</sup>	10,42±0,86 <sup>b</sup>	7,82±5,77 <sup>a</sup>
18:3n-3c	2,74±0,58 <sup>a</sup>	1,54±0,60 <sup>a,b</sup>	0,9±0,78 <sup>b</sup>
18:3n-6	0,37±0,40 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,13±0,11 <sup>a</sup>
20:0	2,58±1,88 <sup>a</sup>	0,93±0,04 <sup>a</sup>	0,75±0,65 <sup>a</sup>
20:3n-6	1,61±0,51 <sup>a</sup>	1,61±1,12 <sup>a</sup>	0,72±0,63 <sup>a</sup>
20:4n-6	0,77±0,67 <sup>a</sup>	0,93±0,10 <sup>a</sup>	0,71±0,42 <sup>a</sup>
20:5n-3*	0,78±0,08 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,38±0,35 <sup>b</sup>
21:0	0,12±0,21 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,50±0,87 <sup>a</sup>
22:1n-9	0,28±0,26 <sup>a</sup>	0,09±0,15 <sup>a</sup>	0,44±0,56 <sup>a</sup>
24:0	0,61±0,10 <sup>a</sup>	0,34±0,07 <sup>a</sup>	0,63±0,40 <sup>a</sup>
AGS*	564,27±26,14 <sup>a</sup>	366,38±29,35 <sup>b</sup>	418,73±38,62 <sup>b</sup>
AGMI*	191,21±8,62 <sup>a</sup>	126,88±8,10 <sup>b</sup>	123,38±29,05 <sup>b</sup>
AGPI	18,61±2,57 <sup>a</sup>	13,83±1,34 <sup>a</sup>	10,25±7,53 <sup>a</sup>
AGI/AGS	0,37±0,00 <sup>a</sup>	0,39±0,00 <sup>a</sup>	0,33±0,11 <sup>a</sup>
n-3*	3,52±0,66 <sup>a</sup>	1,54±0,60 <sup>a,b</sup>	1,28±1,11 <sup>b</sup>
n-6	15,16±1,67 <sup>a</sup>	12,28±0,91 <sup>a</sup>	9,39±6,76 <sup>a</sup>
n-6/n-3	4,35±0,42 <sup>a</sup>	8,61±2,51 <sup>a</sup>	4,63±4,03 <sup>a</sup>
C4-C12*	130,85±7,32 <sup>a</sup>	88,67±11,40 <sup>b</sup>	90,8±1,87 <sup>b</sup>
C13-C17*	368,38±15,57 <sup>a</sup>	244,84±16,50 <sup>b</sup>	270,03±1,62 <sup>b</sup>
C18*	267,26±11,51 <sup>a</sup>	170,35±11,15 <sup>b</sup>	168,59±32,58 <sup>b</sup>

\* ácidos graxos com valor de Pr>F menor que 0,05 (existência de diferença significativa entre os lotes. Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes.

AGS= Ácidos Graxos Saturados; AGMI= Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI= Ácidos Graxos Poliinsaturados

Com relação ao leite semidesnatado, na marca 1 foram encontradas diferenças significativas entre os ácidos graxos 14:1 (ácido miristoléico),

16:1(ácido palmitoléico), 18:3n-3c (ácido linolênico), 18:3n-6 (Ácido Gama-Linolênico) e também na proporção AGI/AGS, n-3, n-6, n-6/n-3.

Na marca 2, foram encontradas diferenças entre 14:1 (ácido miristoléico), 16:1(ácido palmitoléico), 18:3n-6 (Ácido Gama-Linolênico) e na relação n-6/n-3.

Na tabela TACO (Lima *et al.*,2006), não existem dados nutricionais sobre o leite de vaca semidesnatado. Porém, na The Nutritional Composition of Dairy Products de 2002, uma publicação britânica semelhante à TACO brasileira, informa que a quantidade de AGS em leite semidesnatado é de 1,10g/100 mL, de AGMI é 0,4g/100 mL, AGPI existe a presença de traços apenas e 0,1g/100 mL de ácidos graxos *trans*.

Neste caso, deve-se considerar que a tabela trata de leite de seu país de origem, ou seja, da Inglaterra, onde as realidades em que o animal vive são diferentes.

Na marca 1 analisada, a quantidade de saturados foi próxima à sugerida pela tabela inglesa, (aproximadamente 0,9g/100mL), a relação AGI/AGS apresentou-se quase próxima à quantidade ideal sugerida pelo Department of Health and Social Security (1984), citado no capítulo 1, que sugere que a relação de consumo deve ser maior que 0,45 para ser saudável. A marca 1 apresentou níveis próximos a este valor em seus três lotes (L1= 0,36,L2=0,38, L3=0,38) e a marca 2 obteve um valor maior no terceiro lote (0,44). Os valores de n-3 também tiveram uma grande variação entre os lotes na marca 2 também.

Com relação aos ácidos graxos essenciais EPA (20:5n-3) e DHA (22:6n-3), foram encontradas pequenas quantidades no terceiro lote da marca 1 e nenhuma quantidade nos primeiros dois lotes. Na segunda marca os três lotes apresentaram uma pequena quantidade de EPA, mas nenhuma das duas marcas apresentaram DHA. Estes dois tipos de ácidos graxos n-3 são encontrados em grande quantidade em óleos marinhos e outros peixes de águas profundas e também em algas marinhas, óleos e sementes de alguns vegetais. São os mais pesquisados e que proporcionam maiores benefícios à

saúde, pois foi constatado que esses ácidos graxos são capazes de ajudar no controle da lipídemia e conter reações inflamatórias, entre outros benefícios. Dessa forma, podem ser coadjuvantes no tratamento de doenças cardiovasculares, artrite, psoríase, etc. Estudos recentes relacionam o uso do DHA em melhorar sintomas de depressão, Mal de Alzheimer e distúrbios de comportamento, como a hiperatividade e déficit de atenção (Belda e Pourchet-Campos, 1991).

Tabela 2.8.: Ácidos graxos presentes no Leite Semidesnatado–marca 1

Ácidos Graxos (mg/100mL)	Lote 1 (mg/100 mL)	Lote 2 (mg/100 mL)	Lote 3 (mg/100 mL)
4:0	66,93±0,44 <sup>a</sup>	67,82±6,53 <sup>a</sup>	73,39±0,94 <sup>a</sup>
6:0	35,62±2,91 <sup>a</sup>	35,3±3,09 <sup>a</sup>	37,05±1,30 <sup>a</sup>
8:0	19,12±1,71 <sup>a</sup>	19,71±1,54 <sup>a</sup>	20,33±0,93 <sup>a</sup>
10:0	36,44±3,01 <sup>a</sup>	38,79±2,90 <sup>a</sup>	39,26±2,20 <sup>a</sup>
11:0	5,24±0,49 <sup>a</sup>	5,02±0,35 <sup>a</sup>	5,56±0,10 <sup>a</sup>
12:0	41,52±3,48 <sup>a</sup>	43,43±3,19 <sup>a</sup>	44,49±2,12 <sup>a</sup>
13:0	3,29±0,28 <sup>a</sup>	3,43±0,38 <sup>a</sup>	3,63±0,09 <sup>a</sup>
14:0	139,95±10,65 <sup>a</sup>	138,88±9,10 <sup>a</sup>	145,12±4,54 <sup>a</sup>
14:1*	15,05±1,19 <sup>a,b</sup>	13,09±0,79 <sup>b</sup>	15,58±0,87 <sup>a</sup>
15:0	16,45±1,26 <sup>a</sup>	16,50±1,27 <sup>a</sup>	17,08±1,54 <sup>a</sup>
15:1	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,11±0,19 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
16:0	396,30±30,54 <sup>a</sup>	365,01±20,67 <sup>a</sup>	283,43±212,67 <sup>a</sup>
16:1*	27,57±2,08 <sup>a,b</sup>	25,14±1,48 <sup>b</sup>	29,09±0,19 <sup>a</sup>
17:0	9,07±0,70 <sup>a</sup>	8,34±0,49 <sup>a</sup>	9,4±0,62 <sup>a</sup>
17:1	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,09±0,16 <sup>a</sup>	1,32±2,29 <sup>a</sup>
18:0	153,57±11,86 <sup>a</sup>	169,60±9,03 <sup>a</sup>	166,47±6,57 <sup>a</sup>
18:1n-9c	258,88±15,41 <sup>a</sup>	274,17±15,94 <sup>a</sup>	287,86±8,09 <sup>a</sup>
18:2n-6c	20,66±1,43 <sup>a</sup>	22,58±0,95 <sup>a</sup>	21,13±3,79 <sup>a</sup>
18:3n-3c*	3,39±0,53 <sup>a</sup>	6,32±0,24 <sup>a</sup>	5,52±0,26 <sup>b</sup>
18:3n-6*	0,30±0,03 <sup>a</sup>	0,10±0,17 <sup>a,b</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
20:0	2,59±0,23 <sup>a</sup>	2,44±0,08 <sup>a</sup>	2,68±0,21 <sup>a</sup>
20:2	0,25±0,02 <sup>a</sup>	0,24±0,04 <sup>a</sup>	0,16±0,14 <sup>a</sup>
20:3n-6	1,85±0,17 <sup>a</sup>	1,32±1,14 <sup>a</sup>	2,02±0,04 <sup>a</sup>
20:4n-6	1,51±0,22 <sup>a</sup>	1,90±0,31 <sup>a</sup>	1,83±0,47 <sup>a</sup>
20:5n-3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,37±0,64 <sup>a</sup>
22:1n-9	0,44±0,10 <sup>a</sup>	0,28±0,24 <sup>a</sup>	0,57±0,27 <sup>a</sup>
22:2n-6c	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,09±0,16 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
23:0	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,22±0,39 <sup>a</sup>
24:0	0,67±0,08 <sup>a</sup>	0,84±0,07 <sup>a</sup>	0,78±0,09 <sup>a</sup>
24:1	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	1,33±2,30 <sup>a</sup>
AGS	926,77±67,54 <sup>a</sup>	915,15±58,51 <sup>a</sup>	961,56±35,14 <sup>a</sup>
AGMI	301,93±18,77 <sup>a</sup>	314,39±16,77 <sup>a</sup>	335,75±5,82 <sup>a</sup>
AGPI	27,97±2,27 <sup>a</sup>	33,91±0,61 <sup>a</sup>	31,02±3,89 <sup>a</sup>
AGI/AGS*	0,36±0,01 <sup>b</sup>	0,38±0,01 <sup>a</sup>	0,38±0,01 <sup>a</sup>
n-3*	3,39±0,53 <sup>b</sup>	6,32±0,24 <sup>a</sup>	5,88±0,43 <sup>a</sup>
n-6	24,33±1,76 <sup>a</sup>	26,57±0,64 <sup>a</sup>	24,98±4,25 <sup>a</sup>
n-6/n-3*	7,25±0,72 <sup>a</sup>	4,21±0,14 <sup>b</sup>	4,29±0,96 <sup>b</sup>
C4-C12	204,87±12 <sup>a</sup>	210,1±17,57 <sup>a</sup>	220,08±6,59 <sup>a</sup>
C13-C17	607,68±46,69 <sup>a</sup>	570,51±34,34 <sup>a</sup>	615,99±21,17 <sup>a</sup>
C18	436,8±29,12 <sup>a</sup>	472,76±25,92 <sup>a</sup>	480,97±17,91 <sup>a</sup>

\* ácidos graxos com valor de Pr>F menor que 0,05 (existência de diferença significativa entre os lotes). Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes.

AGS= Ácidos Graxos Saturados; AGMI= Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI= Ácidos Graxos Poliinsaturados

Tabela 2.9.: Ácidos graxos presentes no Leite Semidesnatado–marca 2.

<b>Ácidos Graxos (mg/100mL)</b>	<b>Lote 1 (mg/100 mL)</b>	<b>Lote 2 (mg/100 mL)</b>	<b>Lote 3 (mg/100 mL)</b>
<b>4:0</b>	56,25±9,93 <sup>a</sup>	63,6±2,23 <sup>a</sup>	67,14±13,31 <sup>a</sup>
<b>6:0</b>	31,55±2,92 <sup>a</sup>	30,86±1,07 <sup>a</sup>	34,08±8,37 <sup>a</sup>
<b>8:0</b>	17,60±1,71 <sup>a</sup>	16,70±0,33 <sup>a</sup>	18,01±3,98 <sup>a</sup>
<b>10:0</b>	33,50±2,95 <sup>a</sup>	31,26±0,71 <sup>a</sup>	32,63±6,42 <sup>a</sup>
<b>11:0</b>	5,43±0,56 <sup>a</sup>	5,12±0,08 <sup>a</sup>	6,1±2,3 <sup>a</sup>
<b>12:0</b>	39,29±3,44 <sup>a</sup>	36,37±1,05 <sup>a</sup>	37,46±7 <sup>a</sup>
<b>13:0</b>	3,44±0,32 <sup>a</sup>	2,25±1,95 <sup>a</sup>	3,3±0,53 <sup>a</sup>
<b>14:0</b>	134,71±11,83 <sup>a</sup>	123,97±4,11 <sup>a</sup>	127,87±21,44 <sup>a</sup>
<b>14:1</b>	17,14±1,66 <sup>a</sup>	15,80±0,23 <sup>a</sup>	16,37±2,29 <sup>a</sup>
<b>15:0</b>	17,66±1,59 <sup>a</sup>	17,57±0,41 <sup>a</sup>	18,14±2,51 <sup>a</sup>
<b>15:1</b>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,18±0,31 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
<b>16:0</b>	359,67±30,79 <sup>a</sup>	345,27±10,80 <sup>a</sup>	294,78±142,14 <sup>a</sup>
<b>16:1</b>	28,14±2,61 <sup>a</sup>	26,85±0,87 <sup>a</sup>	28,13±4,52 <sup>a</sup>
<b>17:0</b>	9,89±0,94 <sup>a</sup>	9,23±0,66 <sup>a</sup>	10,05±2,54 <sup>a</sup>
<b>17:1</b>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	1,46±2,53 <sup>a</sup>	1,50±2,59 <sup>a</sup>
<b>18:0</b>	141,29±12,38 <sup>a</sup>	141,65±5,43 <sup>a</sup>	149,85±23,8 <sup>a</sup>
<b>18:1n-9c</b>	255,03±22,45 <sup>a</sup>	252,09±8,13 <sup>a</sup>	275,27±41,42 <sup>a</sup>
<b>18:2n-6c</b>	12,79±0,85 <sup>a</sup>	15,57±1,69 <sup>a</sup>	13,14±4,01 <sup>a</sup>
<b>18:3n-3c</b>	4,56±0,63 <sup>a</sup>	3,40±0,17 <sup>a</sup>	5,05±1,03 <sup>a</sup>
<b>18:3n-6*</b>	0,08±0,14 <sup>a,b</sup>	0,25±0,02 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>
<b>20:0</b>	2,39±0,13 <sup>a</sup>	2,53±0,13 <sup>a</sup>	2,56±0,42 <sup>a</sup>
<b>20:2</b>	0,15±0,13 <sup>a</sup>	0,09±0,15 <sup>a</sup>	0,07±0,12 <sup>a</sup>
<b>20:3n-6</b>	1,68±0,10 <sup>a</sup>	1,91±0,04 <sup>a</sup>	1,75±0,31 <sup>a</sup>
<b>20:4n-6</b>	1,45±0,35 <sup>a</sup>	1,30±0,04 <sup>a</sup>	1,22±0,23 <sup>a</sup>
<b>20:5n-3</b>	0,73±0,67 <sup>a</sup>	0,33±0,57 <sup>a</sup>	0,77±0,67 <sup>a</sup>
<b>22:0</b>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,35±0,61 <sup>a</sup>
<b>22:1n-9</b>	0,72±0,33 <sup>a</sup>	0,40±0,06 <sup>a</sup>	0,63±0,19 <sup>a</sup>
<b>22:2n-6c</b>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,12±0,21 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
<b>23:0</b>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,45±0,79 <sup>a</sup>
<b>24:0</b>	0,8±0,15 <sup>a</sup>	0,88±0,07 <sup>a</sup>	0,83±0,07 <sup>a</sup>
<b>24:1</b>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,07±0,12 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
<b>AGS</b>	853,48±74,03 <sup>a</sup>	813,77±46,04 <sup>a</sup>	803,6±231,45 <sup>a</sup>
<b>AGMI</b>	301,03±26,53 <sup>a</sup>	296,86±8,40 <sup>a</sup>	321,90±45,41 <sup>a</sup>
<b>AGPI</b>	21,45±1,70 <sup>a</sup>	22,97±2,02 <sup>a</sup>	22±4,57 <sup>a</sup>
<b>AGI/AGS</b>	0,38±0,00 <sup>a</sup>	0,40±0,02 <sup>a</sup>	0,44±0,08 <sup>a</sup>
<b>n-3</b>	5,30±1,03 <sup>a</sup>	3,73±0,46 <sup>a</sup>	5,83±1,23 <sup>a</sup>
<b>n-6</b>	16±0,60 <sup>a</sup>	19,15±1,98 <sup>a</sup>	16,10±4,39 <sup>a</sup>
<b>n-6/n-3*</b>	3,08±0,45 <sup>b</sup>	5,19±0,89 <sup>a</sup>	2,85±1,04 <sup>b</sup>
<b>C4-C12</b>	183,64±17,67 <sup>a</sup>	185,57±6,32 <sup>a</sup>	195,41±40,24 <sup>a</sup>
<b>C13-C17</b>	570,65±49,72 <sup>a</sup>	541,12±17,71 <sup>a</sup>	498,65±175,09 <sup>a</sup>
<b>C18</b>	413,76±36,27 <sup>a</sup>	412,98±15,25 <sup>a</sup>	443,31±68,98 <sup>a</sup>

\* ácidos graxos com valor de Pr>F menor que 0,05 (existência de diferença significativa entre os lotes. Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes.

AGS= Ácidos Graxos Saturados; AGMI= Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI= Ácidos Graxos Poliinsaturados



No leite integral UHT, na marca 1, foram encontradas diferenças entre todos os ácidos graxos saturados e na maioria dos insaturados, com exceção de 17:1 (ácido cis-Heptadecenoico), 18:3n-6 (ácido gama-linolênico), 20:2 (ácido cis-eicosadienoico), 20:3n-6 (ácido cis-eicosatrienoico), 20:4n-6 (ácido araquidônico), 22:1n-9 (ácido erúcico) e no somatório de AGPI.

Na marca 2, as diferenças também foram encontradas em todos os ácidos graxos saturados e insaturados, com exceção de 17:1 (ácido cis-Heptadecenoico), 20:2 (ácido cis-eicosadienoico), 20:3n-6 (ácido cis-eicosatrienoico), 20:4n-6 (ácido araquidônico), 22:1n-9 (ácido erúcico). Também não foram encontradas diferenças na relação AGI/AGS e na somatória de ácidos graxos de cadeia curta.

Os produtores de ambos os leites integrais não responderam ao contato feito sobre a informação da alimentação dada aos animais produtores. A nutrição animal pode surtir efeitos na qualidade do leite, ou seja, a dieta pode influenciar as proporções dos principais componentes do leite, como a gordura, a proteína e a lactose. A descoberta da ação positiva à saúde de ácidos graxos, como o ácido linoléico conjugado (CLA) existente no leite, faz com que este seja reconhecido como um alimento funcional (ou nutracêutico). Essa categoria de alimento promete não só nutrir, como prevenir ou combater doenças e melhorar a saúde do consumidor. Neste caso há a valorização dos produtos lácteos (Modesto *et al.*,2009). Além do fator alimentação, conforme apresentado na tabela 2.3., existem outros fatores que podem influenciar na composição dos ácidos graxos do leite bovino.

Em comparação com a tabela TACO (Lima *et al.*,2006), mostra que a quantidade de ácidos graxos saturados em leite integral é de 1,4g/100g, monoinsaturados é 0,7g/100g e poliinsaturados é de 0,1 g/100g. Os ácidos graxos que tiveram sua quantidade destacada foram 12:0 com 0,06g/100g, 14:0 com 0,25 g/100g, 14:1 com 0,01g/100g, 16:0 com 0,71g/100g, 16:1 com 0,03g/100g, 18:0 com 0,29g/100g, com 18:1 com 0,65g/100g, com 18:2n-6 com 0,04g/100g, 18:3n-3 com 0,02g/100g. Em ambas as marcas, as quantidades destes ácidos graxos apresentaram-se diferente e não próximas dos valores apresentados pela tabela TACO. Apesar de ser um parâmetro a ser

considerado, é um tanto incerto a comparação com valores de outros leites devido a todos os parâmetros já discutidos anteriormente.

A relação AGI/AGS dos lotes da marca 1 apresentaram-se abaixo de 0,45, com exceção do lote 3 e na marca 2 o lote 2 apresentou valor bem acima de 0,45 (8,9). A relação de ômega-6/ômega-3 na marca 1, apenas o lote 1 esteve abaixo de 4 (1,42), os lotes 2 e 3 apresentaram valor um pouco maior que 4 Lote 2= 4,07 e lote 3= 4,21). Já na marca 2, todos os lotes apresentaram a relação com valor abaixo de 4 (lote 1= 1,74, lote 2=1,33 lote 3= 1,38).

No leite de vaca integral foi detectado o ácido rumênico, um ácido linoléico conjugado que tem demonstrado acarretar grandes benefícios à saúde. Apesar de haver 28 isômeros de CLA, os mais pesquisados têm sido o cis-9 trans-11 e o trans-10 cis-12, em função dos seus benefícios relacionados à saúde já terem sido comprovados em animais (Palmquist e Matos, 2005). Estes isômeros são duas moléculas com pequenas diferenças de posição e geometria de ligação, mas com ações diversas e intensas no metabolismo animal, mesmo em quantidades reduzidas na dieta (0,1% - 1% da matéria seca), visto que interfere em processos básicos do metabolismo, como a inibição de substâncias que agem na região promotora de genes (Medeiros, 2002).

Na marca 1, o Ácido Rumênico apresentou comportamento bem variado entre os lotes, sendo que no segundo lote não foi detectado. Na marca 2, os valores entre os lotes não foram muito distantes entre si, apesar de apresentar diferença significativa pelo Teste de Tukey. Estudos são feitos atualmente incluindo componentes na alimentação dos animais com a intenção de aumentar a concentração deste CLA no leite. Santos *et al.*, (2001) observou que a adição de óleo de soja aumenta a concentração de CLA no leite em maior quantidade que a alimentação com o grão de soja. Já Paschoal *et al.*(2007), alimentou vacas com soja extrusada e houve aumento de ácidos graxos poliinsaturados e de ácido linoléico conjugado no leite das vacas.

Na maior parte do mundo, nos locais em que as vacas de leite são mantidas em sistemas confinados, a silagem de milho tem sido o primeiro ou

segundo volumoso em quantidade nas dietas. Nos Estados Unidos da América é um pouco diferente porque a silagem de milho divide espaço com outras silagens ou feno de alfafa. A silagem de milho e o feno de alfafa apresentam pequena quantidade de 20:5 e 22:6 que são mais efetivos em aumentar o teor de CLA no leite bovino do que 18:1, 18:2 e 18:3 que são os principais ácidos graxos mono e poliinsaturados contidos nestes alimentos (Collomb *et al.*,2006).

Segundo Simopoulos (1998), o leite e o queijo de animais que pastam incluem ácido araquidônico, EPA e DHA, enquanto os de animais que se alimentam de grãos não possuem estes componentes.

Na marca 1, com relação ao EPA, este não foi detectado no segundo lote, no primeiro lote foi encontrada uma alta quantidade (22,42 mg/100mL) e no terceiro lote foi detectado uma baixa quantidade (1,5mg/100mL). Conforme descrito no capítulo 1, os ácidos graxos EPA e DHA apresentam uma estrutura semelhante, mas ambos LCPUFA ômega 3 desempenham funções metabólicas e fisiológicas muito diferentes. O EPA relaciona-se principalmente com a proteção da saúde cardiovascular no adulto e o DHA é considerado fundamental para o desenvolvimento do cérebro e do sistema visual, associando a saúde materno-infantil (Modesto *et al.*,2002).

Tabela 2.10.: Ácidos graxos presentes no Leite Integral marca 1.

Ácidos Graxos (mg/100mL)	Lote 1 (mg/100 mL)	Lote 2 (mg/100 mL)	Lote 3 (mg/100 mL)
4:0*	265,43±9,77 <sup>a</sup>	67,82±6,53 <sup>a</sup>	177,24±8,13 <sup>b</sup>
6:0*	78,32±2,58 <sup>b</sup>	35,3±3,09 <sup>a</sup>	88,84±4,24 <sup>a</sup>
8:0*	97,69±3,29 <sup>a</sup>	19,71±1,54 <sup>a</sup>	48,64±2,08 <sup>b</sup>
10:0*	188,57±6,84 <sup>a</sup>	38,79±2,9 <sup>a</sup>	84,43±3,71 <sup>c</sup>
11:0*	26,01±1,2 <sup>a</sup>	5,02±0,35 <sup>a</sup>	14,57±0,52 <sup>b</sup>
12:0*	196,13±6,97 <sup>a</sup>	43,43±3,19 <sup>a</sup>	103,62±4,92 <sup>b</sup>
13:0*	15,59±0,66 <sup>a</sup>	3,43±0,38 <sup>a</sup>	9,75±0,3 <sup>b</sup>
14:0*	456,93±16,68 <sup>a</sup>	138,88±9,1 <sup>a</sup>	337,65±15,66 <sup>b</sup>
14:1*	58,01±1,79 <sup>a</sup>	13,09±0,79 <sup>b</sup>	42,65±1,97 <sup>b</sup>
15:0*	62,55±2,26 <sup>a</sup>	16,5±1,27 <sup>a</sup>	44,36±1,9 <sup>b</sup>
15:1*	6,82±0,21 <sup>b</sup>	0,11±0,19 <sup>a</sup>	9,76±0,62 <sup>a</sup>
16:0*	497,81±17,79 <sup>c</sup>	365,01±20,67 <sup>a</sup>	870,86±40,13 <sup>b</sup>
16:1*	63,75±2,37 <sup>b</sup>	25,14±1,48 <sup>b</sup>	77,9±3,42 <sup>a</sup>
17:0*	22,75±0,73 <sup>a</sup>	8,34±0,49 <sup>a</sup>	22,6±0,88 <sup>a</sup>
17:1	8,68±0,69 <sup>a</sup>	8,09±0,16 <sup>a</sup>	8,79±0,58 <sup>a</sup>
18:0*	195,92±6,84 <sup>c</sup>	169,6±9,03 <sup>a</sup>	356,07±16,17 <sup>b</sup>
18:1n-7c*	12,27±0,53 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	10,07±0,6 <sup>b</sup>
18:1n-9c*	357,77±12,76 <sup>c</sup>	274,17±15,94 <sup>a</sup>	695,43±31,75 <sup>b</sup>
18:2n-6c*	56,98±1,88 <sup>b</sup>	22,58±0,95 <sup>a</sup>	49,17±1,94 <sup>c</sup>
18:2c9t11*	34,31±1,01 <sup>c</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	119,58±5,36 <sup>a</sup>
18:3n-3c*	12,47±0,5 <sup>a</sup>	6,32±0,24 <sup>a</sup>	6,00±0,15 <sup>c</sup>
18:3n-6	0,79±0,21 <sup>a</sup>	0,1±0,17 <sup>a,b</sup>	0,75±0,19 <sup>a</sup>
20:0*	8,49±0,26 <sup>a</sup>	2,44±0,08 <sup>a</sup>	6,86±0,49 <sup>b</sup>
20:2	0,77±0,16 <sup>a</sup>	0,24±0,04 <sup>a</sup>	0,75±0,19 <sup>a</sup>
20:3n-3*	4,12±0,22 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	5,26±0,42 <sup>a</sup>
20:3n-6	0,00±0,00 <sup>a</sup>	1,32±1,14 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>
20:4n-6	4,25±0,26 <sup>a</sup>	1,9±0,31 <sup>a</sup>	4,61±0,43 <sup>a</sup>
20:5n-3	22,42±0,85 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	1,5±0,2 <sup>c</sup>
22:1n-9	1,44±0,44 <sup>a</sup>	0,28±0,24 <sup>a</sup>	0,75±0,19 <sup>a</sup>
22:2n-6c*	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,09±0,16 <sup>a</sup>	0,86±0,19 <sup>a</sup>
22:6n-3*	4,8±0,29 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	1,08±0,5 <sup>c</sup>
23:0*	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,75±0,19 <sup>a</sup>
24:0*	5,82±0,47 <sup>a</sup>	0,84±0,07 <sup>a</sup>	0,86±0,22 <sup>b</sup>
AGS*	2117,99±76,22 <sup>b</sup>	915,15±58,51 <sup>a</sup>	2177,08±103,37 <sup>b</sup>
AGMI*	508,75±18,65 <sup>b</sup>	314,39±16,77 <sup>a</sup>	845,35±38,82 <sup>a</sup>
AGPI	140,91±4,39 <sup>a</sup>	33,91±0,61 <sup>a</sup>	174,46±35,67 <sup>a</sup>
AGI/AGS*	0,31±0,00 <sup>b</sup>	0,38±0,01 <sup>a</sup>	0,47±0,01 <sup>a</sup>
n-3*	43,81±1,55 <sup>a</sup>	6,32±0,24 <sup>a</sup>	13,83±0,83 <sup>c</sup>
n-6*	62,02±1,95 <sup>b</sup>	26,57±0,64 <sup>a</sup>	56,25±2,45 <sup>b</sup>
n-6/n-3*	1,42±0,01 <sup>c</sup>	4,21±0,14 <sup>b</sup>	4,07±0,12 <sup>a</sup>
C4-C12*	852,14±30,63 <sup>a</sup>	210,1±17,57 <sup>a</sup>	517,34±23,58 <sup>b</sup>
C13-C17*	1192,89±43,01 <sup>b</sup>	570,51±34,34 <sup>a</sup>	1536,77±203,62 <sup>a</sup>
C18*	670,51±23,26 <sup>b</sup>	472,76±25,92 <sup>a</sup>	1237,94±55,98 <sup>a</sup>

\* ácidos graxos com valor de Pr>F menor que 0,05 (existência de diferença significativa entre os lotes. Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes. AGS=Ácidos Graxos Saturados; AGMI= Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI= Ácidos Graxos Poliinsaturados

Tabela 2.11.: Ácidos graxos presentes no Leite Integral marca 2.

Ácidos Graxos (mg/100mL)	Lote 1 (mg/100 mL)	Lote 2 (mg/100 mL)	Lote 3 (mg/100 mL)
4:0*	156,14±6,23 <sup>b</sup>	181,25±3,52 <sup>a</sup>	114,08±3,71 <sup>c</sup>
6:0*	77,8±3,48 <sup>b</sup>	101,21±1,88 <sup>a</sup>	77,64±2,25 <sup>b</sup>
8:0*	40,81±1,85 <sup>c</sup>	49,54±0,78 <sup>b</sup>	57,19±1,59 <sup>a</sup>
10:0*	76,46±2,88 <sup>c</sup>	91,05±2,02 <sup>b</sup>	110,99±3,51 <sup>a</sup>
11:0*	12,57±0,52 <sup>b</sup>	15,19±0,44 <sup>a</sup>	13,19±0,46 <sup>b</sup>
12:0*	100,06±4,04 <sup>b</sup>	106,94±2,08 <sup>b</sup>	122,69±3,64 <sup>a</sup>
13:0*	8,00±0,48 <sup>c</sup>	9,8±0,23 <sup>b</sup>	15,00±0,63 <sup>a</sup>
14:0*	279,36±11,49 <sup>b</sup>	377,32±7,36 <sup>a</sup>	382,25±11,76 <sup>a</sup>
14:1*	39,03±1,59 <sup>b</sup>	48,31±1,02 <sup>a</sup>	36,82±0,96 <sup>b</sup>
15:0*	37,93±1,82 <sup>c</sup>	50,85±0,84 <sup>a</sup>	45,75±1,54 <sup>b</sup>
15:1*	10,92±0,67 <sup>a</sup>	8,11±0,52 <sup>b</sup>	11,24±0,74 <sup>a</sup>
16:0*	789,57±30,94 <sup>b</sup>	961,85±18,14 <sup>a</sup>	1014,04±30,78 <sup>a</sup>
16:1*	65,63±2,7 <sup>b</sup>	84,1±1,66 <sup>a</sup>	59,65±1,99 <sup>c</sup>
17:0*	18,13±0,79 <sup>c</sup>	30,45±0,62 <sup>a</sup>	21,65±0,43 <sup>b</sup>
17:1*	7,95±0,15 <sup>b</sup>	14,61±0,18 <sup>a</sup>	7,65±0,39 <sup>b</sup>
18:0*	371,81±14,36 <sup>b</sup>	393,32±7,56 <sup>a,b</sup>	420,02±12,65 <sup>a</sup>
18:1n-7c*	11,56±0,64 <sup>b</sup>	12,79±0,34 <sup>b</sup>	20,83±1,4 <sup>a</sup>
18:1n-9c*	555±21,79 <sup>c</sup>	739,34±13,81 <sup>a</sup>	695,51±7,43 <sup>b</sup>
18:2n-6c*	32,93±1,13 <sup>b</sup>	46,35±0,93 <sup>b</sup>	67,33±13,04 <sup>a</sup>
18:2c9t11*	35,71±1,5 <sup>c</sup>	47,15±0,75 <sup>b</sup>	65,17±3,5 <sup>a</sup>
18:3n-3c*	14,16±0,82 <sup>b</sup>	13,24±0,5 <sup>b</sup>	33,9±1,31 <sup>a</sup>
18:3n-6*	7,03±0,22 <sup>a</sup>	1,48±0,17 <sup>b</sup>	11,45±3,65 <sup>a</sup>
20:0*	5,64±0,18 <sup>b</sup>	7,08±0,22 <sup>a</sup>	5,59±0,42 <sup>b</sup>
20:2*	0,37±0,15 <sup>b</sup>	0,69±0,01 <sup>b</sup>	13,65±0,22 <sup>a</sup>
20:3n-3*	4,25±0,18 <sup>b</sup>	11,87±0,27 <sup>a</sup>	12,29±0,81 <sup>a</sup>
20:4n-6	3,43±0,3 <sup>a</sup>	3,65±0,33 <sup>a</sup>	11,63±6,18 <sup>a</sup>
20:5n-3*	2,59±0,13 <sup>c</sup>	7,08±0,32 <sup>b</sup>	10,2±0,82 <sup>a</sup>
21:0*	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>	14,66±6,83 <sup>a</sup>
22:0*	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>	24,37±0,98 <sup>a</sup>
22:1n-9	1,01±0,12 <sup>a</sup>	1,48±0,17 <sup>a</sup>	1,8±0,56 <sup>a</sup>
22:6n-3*	3,97±0,17 <sup>b</sup>	6,39±0,21 <sup>a</sup>	7,84±1,01 <sup>a</sup>
23:0*	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>b</sup>	26,85±0,78 <sup>a</sup>
24:0*	1,76±0,13 <sup>b</sup>	2,51±0,24 <sup>a</sup>	1,57±0,24 <sup>b</sup>
24:1*	4,25±0,14 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>c</sup>	27,73±0,93 <sup>a</sup>
AGS*	1989,66±102,27 <sup>b</sup>	2378,35±45,34 <sup>a</sup>	2474,51±74,78 <sup>a</sup>
AGMI*	695,37±27,28 <sup>b</sup>	908,74±17,09 <sup>a</sup>	873,34±24,09 <sup>a</sup>
AGPI*	104,42±3,78 <sup>b</sup>	137,91±2,12 <sup>b</sup>	281,48±46,34 <sup>a</sup>
AGI/AGS	0,4±0,00 <sup>a</sup>	8,9±14,66 <sup>a</sup>	0,47±0,01 <sup>a</sup>
n-3*	24,97±0,77 <sup>c</sup>	38,59±0,91 <sup>b</sup>	62,45±1,91 <sup>a</sup>
n-6*	43,38±1,61 <sup>c</sup>	51,48±0,45 <sup>b</sup>	117,3±4,25 <sup>a</sup>
n-6/n-3*	1,74±0,02 <sup>b</sup>	1,33±0,02 <sup>c</sup>	1,88±0,01 <sup>a</sup>
C4-C12	463,84±19 <sup>a</sup>	545,18±10,62 <sup>a</sup>	1154,55±1140,58 <sup>a</sup>
C13-C17*	1256,53±50,4 <sup>b</sup>	1585,39±30,06 <sup>a</sup>	1594,07±47,71 <sup>a</sup>
C18*	1039,91±36,98 <sup>b</sup>	1253,67±23,42 <sup>a</sup>	1340±41,92 <sup>a</sup>

\*ácidos graxos com valor de Pr>F menor que 0,05 (existência de diferença significativa entre os lotes. Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes.

AGS= Ácidos Graxos Saturados; AGMI= Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI= Ácidos Graxos Poliinsaturados

Com relação ao leite em pó, na marca 1, foram encontradas diferenças significativas em todos os ácidos graxos saturados, nos insaturados, com exceção do 18:2n-6t (ácido linolelaídico) e da relação AGI/AGS.

Na marca 2, não foram encontradas diferenças significativas nos ácidos graxos saturados 4:0, 14:0, 15:0, 16:0, 20:0 e também nos insaturados 15:1, 18:3n-3c, 20:1. Também, na somatória de saturados e de ácidos graxos de cadeia média também não houve diferenças entre as médias entre os lotes.

Na tabela TACO (Lima *et al.*, 2006), o leite em pó integral possui 16,3g/100g de ácidos graxos saturados, monoinsaturados são 7,1g/100g, poliinsaturados são 0,5g/100g. Em ambas as marcas, houve quantidades menores que estas encontradas pela TACO. Os ácidos graxos que tiveram suas quantidades destacadas foram 12:0 com 0,58g/100g, 14:0 com 2,62g/100g, 14:1 com 0,15g/100g, 16:0 com 8,11g/100g, 16:1 com 0,56g/100g, 18:0 com 3,48g/100g, 18:1 com 6,25g/100g, 18:2n-6 com 0,41g/100g, 18:3n-3 com 0,10g/100g, 18-1t com 0,84, 18:2t com 0,10g/100g, 20:0 com 0,05g/100g, 20:1 com 0,05g/100g.

Nos lotes das marcas analisadas, as quantidades encontradas dos ácidos graxos destacados acima foram menores em todos eles.

Não foi detectado o CLA ácido rumênico em nenhuma marca de leite em pó, porém, foram detectados outros ácidos graxos trans, como o 18:1n-9t (ácido trans, vacênico) e o 18:2n-6t (ácido linolelaídico).

A relação AGI/AGS na marca 1 foi de 0,62 no lote 1 e de 0,35 nos lotes 2 e 3. Com exceção do lote 1, os valores estão abaixo do valor máximo de 0,45 recomendado pelo Department of Health and Social Security (1984). A relação n-6/n-3, cujo valor máximo deve ser de 4, de acordo com o Department of Health (1994), ficou próximo deste valor em ambos os lotes.

Na marca 2, a relação AGI/AGS ficou abaixo de 0,45 nos três lotes. A relação n-6/n-3 ficou abaixo de 4 em ambos os lotes, apenas no lote 3 ficou próximo de 4 (3,86).

Tabela 2.12.: Ácidos graxos presentes no Leite Integral em pó marca 1.

Ácidos Graxos (mg/100mL)	Lote 1 (mg/100 mL)	Lote 2 (mg/100 mL)	Lote 3 (mg/100 mL)
4:0*	234,48±8,13 <sup>a</sup>	106,37±2,47 <sup>b</sup>	106,37±2,47 <sup>b</sup>
6:0*	203,82±4,19 <sup>a</sup>	91,84±2,13 <sup>b</sup>	91,84±2,13 <sup>b</sup>
8:0*	113,15±2,23 <sup>a</sup>	48,67±1,29 <sup>b</sup>	48,67±1,29 <sup>b</sup>
10:0*	218,17±3,9 <sup>a</sup>	94,53±2,36 <sup>c</sup>	94,53±2,36 <sup>c</sup>
11:0*	22,48±0,26 <sup>a</sup>	11,09±0,15 <sup>b</sup>	11,09±0,15 <sup>b</sup>
12:0*	239,23±4,91 <sup>a</sup>	105,52±2,62 <sup>c</sup>	105,52±2,62 <sup>c</sup>
14:0*	821,49±15,88 <sup>a</sup>	373,17±8,57 <sup>b</sup>	373,17±8,57 <sup>b</sup>
14:1*	73,45±1,78 <sup>a</sup>	34,78±0,86 <sup>b</sup>	34,78±0,86 <sup>b</sup>
15:0*	93,3±2,27 <sup>a</sup>	43,71±1,01 <sup>b</sup>	43,71±1,01 <sup>b</sup>
15:1*	1,92±0,44 <sup>a</sup>	0,75±0,18 <sup>b</sup>	0,75±0,18 <sup>b</sup>
16:0*	2115,92±40,32 <sup>a</sup>	1002,05±23,4 <sup>b</sup>	1002,05±23,4 <sup>b</sup>
16:1*	148,07±2,48 <sup>a</sup>	68,26±1,58 <sup>b</sup>	68,26±1,58 <sup>b</sup>
17:0*	63,42±3,11 <sup>a</sup>	31,76±0,6 <sup>b</sup>	31,76±0,6 <sup>b</sup>
17:1*	16,99±0,7 <sup>a</sup>	9,8±0,14 <sup>b</sup>	9,8±0,14 <sup>b</sup>
18:0*	1060,23±19,73 <sup>a</sup>	462±10,65 <sup>b</sup>	462±10,65 <sup>b</sup>
18:1n-9c*	1495,14±28,67 <sup>a</sup>	640,72±15 <sup>b</sup>	640,72±15 <sup>b</sup>
18:1n-9t*	5,99±0,52 <sup>a</sup>	3,98±0,13 <sup>b</sup>	3,98±0,13 <sup>b</sup>
18:2n-6c*	121,77±2,65 <sup>a</sup>	51,57±1,24 <sup>b</sup>	51,57±1,24 <sup>b</sup>
18:2n-6t	10,77±0,86 <sup>a</sup>	5,76±3,07 <sup>b</sup>	5,76±3,07 <sup>b</sup>
18:3n-3c*	37,56±1,11 <sup>a</sup>	14,97±0,37 <sup>b</sup>	14,97±0,37 <sup>b</sup>
18:3n-6*	1,43±0,03 <sup>a</sup>	1,19±0,21 <sup>a</sup>	1,19±0,21 <sup>a</sup>
20:0*	16,27±0,69 <sup>a</sup>	7,86±0,11 <sup>b</sup>	7,86±0,11 <sup>b</sup>
20:1*	12,68±0,62 <sup>a</sup>	5,71±0,31 <sup>b</sup>	5,71±0,31 <sup>b</sup>
20:3n-6*	3,83±0,48 <sup>a</sup>	1,72±0,16 <sup>b</sup>	1,72±0,16 <sup>b</sup>
20:4n-6*	8,14±0,56 <sup>a</sup>	3,45±0,25 <sup>b</sup>	3,45±0,25 <sup>b</sup>
20:5n-3*	1,92±0,44 <sup>a</sup>	0,86±0,2 <sup>b</sup>	0,86±0,2 <sup>b</sup>
21:0*	2,64±0,45 <sup>a</sup>	1,19±0,21 <sup>b</sup>	1,19±0,21 <sup>b</sup>
22:0*	4,07±0,47 <sup>a</sup>	1,83±0,22 <sup>b</sup>	1,83±0,22 <sup>b</sup>
22:6n-3*	1,67±0,41 <sup>a</sup>	0,75±0,19 <sup>b</sup>	0,75±0,19 <sup>b</sup>
23:0*	3,83±0,48 <sup>a</sup>	1,72±0,18 <sup>b</sup>	1,72±0,18 <sup>b</sup>
24:0*	34,71±2,61 <sup>a</sup>	5,06±0,29 <sup>b</sup>	5,06±0,29 <sup>b</sup>
AGS*	5247,21±108,1 <sup>a</sup>	2388,37±55,87 <sup>b</sup>	2388,37±55,87 <sup>b</sup>
AGMI*	1754,73±35,77 <sup>a</sup>	762,21±20,27 <sup>b</sup>	762,21±20,27 <sup>b</sup>
AGPI*	189,74±6,12 <sup>a</sup>	79,47±2,33 <sup>b</sup>	79,47±2,33 <sup>b</sup>
AGI/AGS	0,62±0,43 <sup>a</sup>	0,35±0,00 <sup>a</sup>	0,35±0,00 <sup>a</sup>
n-3*	41,15±1,52 <sup>a</sup>	16,58±0,68 <sup>b</sup>	16,58±0,68 <sup>b</sup>
n-6*	143,36±8,14 <sup>a</sup>	62,02±1,77 <sup>b</sup>	62,02±1,77 <sup>b</sup>
n-6/n-3*	3,48±0,07 <sup>c</sup>	3,74±0,11 <sup>b</sup>	3,74±0,11 <sup>b</sup>
C4-C12*	1031,33±23 <sup>a</sup>	458,02±10,97 <sup>b</sup>	458,02±10,97 <sup>b</sup>
C13-C17*	3351,82±46,28 <sup>a</sup>	1564,28±36,05 <sup>b</sup>	1564,28±36,05 <sup>b</sup>
C18*	2752,1±33,54 <sup>a</sup>	1178,52±27,57 <sup>b</sup>	1178,52±27,57 <sup>b</sup>

\*ácidos graxos com valor de Pr>F menor que 0,05 (existência de diferença significativa entre os lotes. Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes.

AGS= Ácidos Graxos Saturados; AGMI= Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI= Ácidos Graxos Poliinsaturados

Tabela 2.13.: Ácidos graxos presentes no Leite Integral em pó marca 2.

Ácidos Graxos (mg/100mL)	Lote 1 (mg/100 mL)	Lote 2 (mg/100 mL)	Lote 3 (mg/100 mL)
4:0	108,84±3,26 <sup>a</sup>	117,04±6,1 <sup>a</sup>	115,68±1,9 <sup>a</sup>
6:0*	90,76±2,59 <sup>b</sup>	98,55±4,82 <sup>a,b</sup>	100,57±2,01 <sup>a</sup>
8:0*	49,03±1,63 <sup>b</sup>	54,16±2,64 <sup>a</sup>	57,79±1,38 <sup>a</sup>
10:0*	92,99±2,78 <sup>b</sup>	104,24±4,99 <sup>a</sup>	109,57±2,17 <sup>a</sup>
11:0*	11,51±0,22 <sup>b</sup>	13,02±0,87 <sup>a</sup>	13,72±0,18 <sup>a</sup>
12:0*	105,35±3,02 <sup>b</sup>	108,21±5,72 <sup>b</sup>	126,4±2,09 <sup>a</sup>
14:0	372,89±11,07 <sup>a</sup>	395,16±20,36 <sup>a</sup>	407,48±7,55 <sup>a</sup>
14:1*	39,41±1,04 <sup>b</sup>	39,16±1,88 <sup>b</sup>	47,86±0,67 <sup>a</sup>
15:0	42,9±1,15 <sup>a</sup>	45,45±2,52 <sup>a</sup>	43,71±0,6 <sup>a</sup>
15:1	0,74±0,18 <sup>a</sup>	1,16±0,17 <sup>a</sup>	0,93±0,21 <sup>a</sup>
16:0	1021,38±30,87 <sup>a</sup>	1088,65±55,41 <sup>a</sup>	1097,28±19,61 <sup>a</sup>
16:1*	71,22±2,29 <sup>b</sup>	75,08±3,71 <sup>b</sup>	82,93±1,69 <sup>a</sup>
17:0*	31,28±1,09 <sup>b</sup>	36,14±1,64 <sup>a</sup>	29,52±0,34 <sup>b</sup>
17:1*	9,61±0,17 <sup>a</sup>	7,79±0,6 <sup>b</sup>	10,61±0,39 <sup>a</sup>
18:0*	423,61±12,6 <sup>b</sup>	472,22±24,29 <sup>a</sup>	373,57±6,93 <sup>c</sup>
18:1n-9c*	607,8±18,46 <sup>b</sup>	734,42±37,67 <sup>a</sup>	730,64±13,38 <sup>a</sup>
18:1n-9t*	2,75±0,25 <sup>b</sup>	3,36±0,04 <sup>a</sup>	3,57±0,14 <sup>a</sup>
18:2n-6c*	40,68±1,08 <sup>b</sup>	41,96±2,35 <sup>b</sup>	54,56±1,18 <sup>a</sup>
18:2n-6t*	3,91±0,11 <sup>b</sup>	5±0,46 <sup>a</sup>	4,04±0,27 <sup>b</sup>
18:3n-3c	14,37±0,3 <sup>a</sup>	15,22±0,57 <sup>a</sup>	14,99±0,09 <sup>a</sup>
20:0	6,55±0,36 <sup>a</sup>	7,2±0,17 <sup>a</sup>	6,8±0,21 <sup>a</sup>
20:1	5,49±0,1 <sup>a</sup>	5,35±0,48 <sup>a</sup>	5,65±0,1 <sup>a</sup>
20:3n-6*	1,48±0,22 <sup>a,b</sup>	1,27±0,14 <sup>b</sup>	1,84±0,17 <sup>a</sup>
20:4n-6*	3,07±0,26 <sup>b</sup>	3,03±0,32 <sup>b</sup>	4,39±0,28 <sup>a</sup>
20:5n-3*	0,53±0,19 <sup>b</sup>	0,93±0,23 <sup>a,b</sup>	1,15±0,18 <sup>a</sup>
21:0*	0,85±0,19 <sup>b</sup>	2,22±0,32 <sup>a</sup>	1,85±0,23 <sup>a</sup>
22:0*	2,96±0,19 <sup>a</sup>	1,52±0,28 <sup>c</sup>	2,08±0,04 <sup>b</sup>
22:6n-3*	0,74±0,16 <sup>b</sup>	1,27±0,14 <sup>a</sup>	0,81±0,18 <sup>b</sup>
23:0*	1,69±0,14 <sup>b</sup>	2,2±0,15 <sup>a</sup>	2,31±0,19 <sup>a</sup>
24:0*	5,29±0,32 <sup>b</sup>	5,46±0,08 <sup>a,b</sup>	6,12±0,31 <sup>a</sup>
AGS	2367,88±70,9 <sup>a</sup>	2551,43±130,18 <sup>a</sup>	2578,04±46,37 <sup>a</sup>
AGMI*	737,03±22,18 <sup>b</sup>	866,32±44,23 <sup>a</sup>	882,19±16,11 <sup>a</sup>
AGPI*	65,62±1,97 <sup>b</sup>	69,62±3,75 <sup>b</sup>	83,61±1,13 <sup>a</sup>
AGI/AGS*	0,34±0,00 <sup>b</sup>	0,37±0,00 <sup>a</sup>	0,37±0,00 <sup>a</sup>
n-3*	15,64±0,34 <sup>b</sup>	17,42±0,64 <sup>a</sup>	16,95±0,3 <sup>a</sup>
n-6*	49,14±1,48 <sup>b</sup>	51,27±2,95 <sup>b</sup>	65,4±1,45 <sup>a</sup>
n-6/n-3*	3,14±0,04 <sup>b</sup>	2,94±0,07 <sup>b</sup>	3,86±0,15 <sup>a</sup>
C4-C12*	458,48±13,46 <sup>b</sup>	495,22±25,14 <sup>a,b</sup>	523,73±9,65 <sup>a</sup>
C13-C17	1589,43±47,64 <sup>a</sup>	1688,59±86,05 <sup>a</sup>	1720,31±31,05 <sup>a</sup>
C18*	1093,12±32,62 <sup>b</sup>	1272,18±65,3 <sup>a</sup>	1181,94±21,58 <sup>a,b</sup>

\*ácidos graxos com valor de Pr>F menor que 0,05 (existência de diferença significativa entre os lotes. Valores com a mesma letra não são significativamente diferentes.

AGS= Ácidos Graxos Saturados; AGMI= Ácidos Graxos Monoinsaturados; AGPI= Ácidos Graxos Poliinsaturados



## 2.4. CONCLUSÕES

De acordo com as análises realizadas, foi possível verificar a real composição de ácidos graxos de leite UHT, o mais consumido pela população, devido à maior disponibilidade para compra, maior acessibilidade e valor de compra.

O leite desnatado contribui pouco ou quase nada para a ingestão dos ácidos graxos benéficos à saúde. Neste tipo de leite não foi detectado os ácidos graxos essenciais (EPA e DHA) e que trazem benefícios à saúde como o CLA – 18:2 – que é o conjugado mais encontrado em leite.

O leite semidesnatado apresenta pequena quantidade de EPA e DHA, mas não foi detectado ácido rumênico em nenhuma marca analisada.

No leite integral UHT, houve diferenças significativas nos ácidos graxos saturados e alguns insaturados. Foi encontrado ácido rumênico em todos os lotes de ambas as marcas, com exceção do lote 2 da marca 1.

No leite em pó integral, não foi encontrado o ácido rumênico, foram encontradas baixas quantidades de EPA e DHA.

Ocorreram diferenças significativas entre alguns ácidos graxos entre os lotes, de ambas as marcas de todos os tipos de leite. Estas diferenças podem ser atribuídas a vários fatores, porém, não pode ser atribuída uma causa consistente e sólida para estas diferenças, apesar da informação sobre a alimentação dada às vacas leiteiras ter sido fornecida de alguns produtores. Isto porque as condições em que os animais se encontravam no momento da produção dos lotes adquiridos não são possíveis de se afirmar com certeza, visto que foram amostras adquiridas em mercado.

## 2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKMAN, R.G. **The analysis of fatty acids and related materials by gas-liquid chromatography.** *Prog. Chem. Fats & Other Lipids* ,v. 12, pp.165-284, 1972.

ACKMAN, R.G. **The gás chromatography in practical analysis of common and uncommon fatty acids for the 21st century.** *Anal. Chem. Acta*, v. 465, pp.175-192, 2002.

BANNON, C.D., BREEN, G.J., CRASKE, J.D., HAI, N.T., HARPER, N.L., O'ROURKE, K.L. **Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability.** *J. Chrom.*, v.247, pp.71-89, 1982.

BARRY, E.F. **Columns: packed and capillary/column selection in gas chromatography.** *In:* Grob, R.L. (editor). *Modern practice of gas chromatography.* New York: John Wiley & Sons, 887p., 1995.

BELDA, M.C.R. CAMPOS, M.A. **Ácidos Graxos Essenciais em nutrição: uma visão atualizada.** *Ciên. Tecn. Alim.*, v.11, pp.5-33, 1991.

BLIGH E.G, DYER WJ. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** *Can. J. Bioch.* v.37, pp. 911-917, 1959.

Brasil. Ministério da Agricultura. **Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes.** Brasília, 1981; 2 – Métodos Físicos Químicos.

BRONDZ, I. **Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques.** *Anal. Chem. Acta*, v.465, pp.1-37, 2002.

BURJA, A.M., ARMENTA, R.E., RADIANTYAS,H., BARROW,C.J. **Evaluation of Fatty Acid Extraction Methods for Thraustochytrium sp. ONC-T18.** *J. Agric. Food Chem.*, v.55, pp. 4795-4801, 2007

CECCHI, H.M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos.** 2ª Ed. rev. Campinas/SP: Editora da UNICAMP. p.89; 96-97, 2003.

CHEN S, BOBE G, ZIMMERMAN S, HAMMOND E.G., LUHMAN CM, BOYLSTON T.D., FREEMAN A.E., BEITZ D.C.. **Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions.** *J Agric Food Chem.*,v.52, pp.342-348, 2004.

CHRISTIE W.W. **Lipid Analysis.** *Oxford: Pergamon Press. Chrom. Spectr. Anal. Lipids: Gen. Principles*, v. 3, pp.25-49, 1982.

CHRISTIE, W.W. **Some recent advances in the chromatographic analysis of lipids.** *Analysis*, v. 26, pp.34-40, 1998.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia.** Editora Unicamp, Campinas, São Paulo, 2006.

COLLOMB, M., SCHMID, A., SIEBER, R., WECHSLER, D. and RYHÄNEN, E.L. **Conjugated Linoleic Acids in Milk Fat: Variation and Physiological Effects.** *Int. Dairy J.*,v.16, pp.1347-1361.

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY REPORT ON HEALTH AND SOCIAL SUBJECTS: n° 28. **Diet and Cardiovascular Disease** HMSO, London, 1984. *Apud: Meat Science*, v.42, p443-456, 1996.

EDER, K. **Gas Chromatography Analysis of Fatty Acid Methyl Esters.** *J. Chrom. B*, v. 671, pp.13-131, 1995.

FOLCH J, LEES M, SLOANEY G.H. **A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues.** *J. Biol. Chem.* v.226, pp. 497-509, 1957.

FUENTE, M.A. DE LA; LUNA, P.; JUAREZ, M. **Chromatographic Techniques to Determine Conjugated Linoleic Acid Isomers.** *Trends Anal. Chem.*, v. 25(9), pp.917-926, 2006.

GALEAZZI, M. A. M.; DOMENE, S. M. A., SICHIERI, R.. **Estudo Multicêntrico sobre Consumo Alimentar e Estado Nutricional: Cadernos de Debate.** *Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição, Ministério da Saúde/Núcleo de Estudos em Alimentação, Universidade Estadual de Campinas, Brasília, 1997.*

GERSTER, H. **Can adults adequately convert alfa-linolenic (18:n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)?** *Int. Journal Vitaminology Nutr. Res.* v.68, p.159-173, 1997

GONZÁLEZ, F. H. D, DURR, J. W., FONTANELLI, R. S. **Uso do Leite para Monitorar a Nutrição e Metabolismo de Vacas Leiteiras**, UFRGS, Porto Alegre, 2001. (Online) Disponível em <[www6.ufrgs.br/bioquimica/extensao/anais\\_2001.pdf#page=5](http://www6.ufrgs.br/bioquimica/extensao/anais_2001.pdf#page=5)>

LABOSCHAGNE, J. e VOGT,K..**The accuracy of the Gerber test for the determination of fat in milk.** *Afr. Journal Agric. Science*, v. 3(1), pp. 83-89,1960.

LEDOUX, M., LALOUX, L., WOLFF, R.L. **Analytical Methods for Determination of trans-C18 Fatty Acid Isomers in Milk Fat. A review.** *Analysis*, v. 28, pp.402-412, 2000.

LIMA,D.M.,BASILE,F.A.,PADOVANI,R.M.,AMAYA,D.B.R.,SALAY,E.,GALEAZZI ,M.A. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – Taco.** Versão 2, 2ªedição.Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP,2006.

MARANGONI F, AGOSTINI C, LAMMARDO A.M, BONVISSUTO M, GIOVANNINI M, GALLI C, RIVA E. **Polyunsaturated Fatty Acids in Maternal Plasma and in Breast Milk.-Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.** *Elsevier Science Ltda.*v. 66, pp.535-540, 2002.

MARTIN.C.A.,ALMEIDA,V.V.,RUIZ,M.R.,VISENTAINER,J.E.L.,MATSUSHITA. M.,SOUZA,N.E.,VISENTAINER,J.V. **Ácidos Graxos Poliinsaturados Ômega-3 e Ômega-6: Importância e Ocorrência em Alimentos.** *Ver.Nutr.Campinas*, v.19(6), pp.761-770,2006.

MATSUSHITA, M, TAZINAFO, N.M, PADRE, R.G; OLIVEIRA, C.C, SOUZA,N.E, VISENTAINER, J.V, MACEDO, F.A.F., RIBAS, N. P. **Fatty Acid Profile of Milk from Saanen Goats Fed a Diet Enriched with Three Vegetable Oils.** *Small Ruminant Research*, v. 72, pp. 127-132, 2000.

MEDEIROS,S.R. **Ácido Linoléico Conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado.** Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba,2002.

MENDHAM, J.B. **Vogel: Análise Química Quantitativa.** 6ª edição, LTC, 2002.

MILINSK, M.C, MATSUSHITA, M., VISENTAINER, J.V., OLIVEIRA, C.C., SOUZA, N.E. **Comparative analysis of eight esterification methods in the quantitative determination of vegetable oil fatty acid methyl esters (FAME).** *J. Brazilian Chem. Soc., in press, 2008.*

MODESTO,E.C.,SANTOS,G.T.,DAMASCENO,U.,CECATO,D.,VILELA,D.C., SILVA,N.E.,SOUZA,N.E.,MATSUSHITA,M. **Inclusão de silagem de rama de mandioca em substituição à pastagem na alimentação de vacas em lactação: produção, qualidade do leite e da gordura.** *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.61(1), pp.174-181, 2009.*

MODESTO,E.C.SANTOS,G.T;VILELA,D.;GONÇALVES,G.D;MAKOTO,M.**Efeitos Nutricionais de Dietas Ricas em Ácidos Graxos Poliinsaturados para os Ruminantes e alguns Benefícios para o Homem.** *Arq. Ciên. Vet. Zool., UNIPAR. v.5(1), pp. 119-134, 2002.*

PALMQUIST, D.L. & MATTOS, W.R.S. **Metabolismo de Lipídios.** *In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. (Eds.) Nutrição de Ruminantes, Jaboticabal: FUNEP, pp.287-310, 2006.*

PARODI P.W. **Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat.** *J. Dairy Sci. v.82, pp.1339-1349, 1999.*

PARODI, P.W. **Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agent.** *J. Nutr., v.127, pp.1055-1060, 1997.*

PASCHOAL, J.J., ZANETTI, M.A., DELCLARO, G.R., MELO, M.P., PUGINE, S.P., CUNHA, J.A. **Perfil de Ácidos Graxos e Estabilidade Oxidativa do Leite de Vacas Holandesas Alimentadas com Soja Extrusada e Selênio Orgânico.** *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v.42(12), pp.1793-1799, 2007.

ROACH, J.A.G.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P., KRAMER, J.K.G. **Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers.** *Anal. Chim. Acta*, v. 465, pp.207–226, 2002.

ROCHA, G.L. **Influência do Tratamento Térmico no Valor Nutricional do Leite Fluido.** Universidade Católica de Goiás, Departamento de Matemática, Física e Engenharia de Alimentos; Goiânia, Goiás, Brasil; 2004.

ROESE-GOTTLIEB method in AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (W.Horwitz, Ed.), 15th ed. Method 989.05. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, U.S.A 1990.

SANTOS, F.L., SILVA, M.T.C., LANA, R.P., BRANDÃO, C.C., VARGAS, L.H., ABREU, L.R. **Efeito da Suplementação de Lipídios na Ração sobre a Produção de Ácido Linoléico Conjugado (CLA) e a Composição da Gordura do Leite de Vacas.** *Rev. Bras. Zootec.*, v. 30(6), pp.1931-1938, 2001

SAS. INSTITUTE SAS/STAT. **User's Guide: Statistics version 9.1.** Cary, NC, 2002.

SIMIONATO, J.I. **Composição Química e Quantificação de Ácidos Graxos com Ênfase ao Ácido Linoléico Conjugado (CLA) em Leite e Derivados,** 2008. 115f. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

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.** *J. Braz. Chem.Soc.*, pp. 1-5, 2009.

SIMOPOULOS, A.P., **Overview of evolutionary aspects of  $\omega$ -3 fatty acids in the diet.** In: Simopoulos, A.P., editor. **The return of  $\omega$ -3 fatty acids into the food supply.** I. Land-based animal food products and their health effects. *World Rev. Nutr. Diet*, Basel: Karger. v.83. 1998.

SMEDES F, ASKLAND T.K. **Revisiting the development of the Bligh and Dyer total lipid determination method.** *Marine Pollution Bulletin.* v.38, pp.193-201,1999.

SOUZA, L.G., SANTOS, G.T., DAMASCENO, J.C., MATSUSHITA, M., SAKAGUTI, E.S., RIBAS, N.P., VILLALBA, R.G. **Avaliação da Composição e do Perfil de ácidos Graxos do Leite de Vaca Cru e Pasteurizado em Minilaticínios.** Maringá, v.25(2), pp.331-337, 2003.

TONIAL, I.B., MATSUSHITA, M., SOUZA, N.E., PERINI, J.A.L., MORAIS, D.R., BANI, F.A., VISENTAINER, J.V. **Avaliação de Diferentes Métodos de Extração Lipídica sobre a Composição de Ácidos Graxos Poliinsaturados em Leite de Vaca.** *Arch. Latinoamericanas de Nutr.- Organo Oficial de La Sociedad Latinoamericana de Nutrición.* v. 59(1), pp. 78-81, 2009.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant.** Ithaca: Cornell University Press, 476 p., 1994.

VARNAM, A.H., SUTHERLAND, J.P. **Milk and Milk Products: Technology, Chemistry and Microbiology.** *Publisher: Chapman & Hall*, London and New York, 1994, v.1, 1<sup>st</sup> edition, viii, 451p.

VISENTAINER, J.V.; FRANCO, M.R.B. **Ácidos Graxos em Óleos e Gorduras: Identificação e Quantificação.** São Paulo: Livraria Varela, 120p. 2006

ZAMBOM M.A., SANTOS G.T., MODESTO E.C. **Importância das Gorduras Poliinsaturadas na Saúde Humana.** *Rev Soc Bras Zootec.*, pp.547-553 - 7, 2004

ZENEBON, O.;PASCUET,N.S.;TIGLEA,P.- Instituto Adolfo Lutz (São Paulo).  
**Métodos físico-químicos para análise de alimentos** São Paulo: Instituto  
Adolfo Lutz, 2008, pp. 148-154. – 1ª Edição Digital.



### 3. CONCLUSÃO GERAL

É de grande importância o estudo nutricional do leite visto que é um alimento classificado como funcional por muitos estudiosos, além de haver projeções de crescimento contínuo de seu consumo nos próximos anos, conforme apresentado no capítulo 1.

No presente trabalho foi possível verificar a composição de ácidos graxos do leite UHT de vaca, que é o tipo mais consumido pela maior parte da população devido à sua grande disponibilidade frente ao leite *in natura*, pasteurizado ou de outros processos de esterilização.

É necessária a realização de mais estudos para saber a real influência que o processo UHT exerce sobre a composição de ácidos graxos, e mesmo nutricional como um todo, do leite, visto que os trabalhos encontrados não apresentavam dados muito completos por serem artigos de revisão bibliográfica.

Com relação ao consumo de leite desnatado, este é feito normalmente com o objetivo de reduzir o consumo de gorduras. Porém, frente aos resultados obtidos com relação à funcionalidade do leite com ácidos graxos que trazem benefícios à saúde, concluí-se que o processo de desnate reduz drasticamente ou retira deste alimento componentes da gordura que são importantes à saúde (ácidos graxos essenciais, CLA's). Desta forma, sugere-se o consumo de leite integral, mesmo em situações que se deve reduzir o consumo de gordura, fazendo este controle em outros tipos de alimento. Esta ação seria válida para aproveitar o consumo dos ácidos graxos presentes no leite integral que trazem benefícios à saúde, inclusive contribuindo para a redução de gordura abdominal, que é o caso dos ácidos linolêicos conjugados.

A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, TACO, foi desenvolvida no ano de 2006 e é, até os dias de hoje, uma referência muito importante para o conhecimento da composição centesimal dos alimentos. Ela foi intensamente utilizada como ferramenta de comparação no presente estudo, por ser um material referência, porém, não possuía dados relacionados ao leite semidesnatado. Além disso, as quantidades de ácidos graxos não foram muito

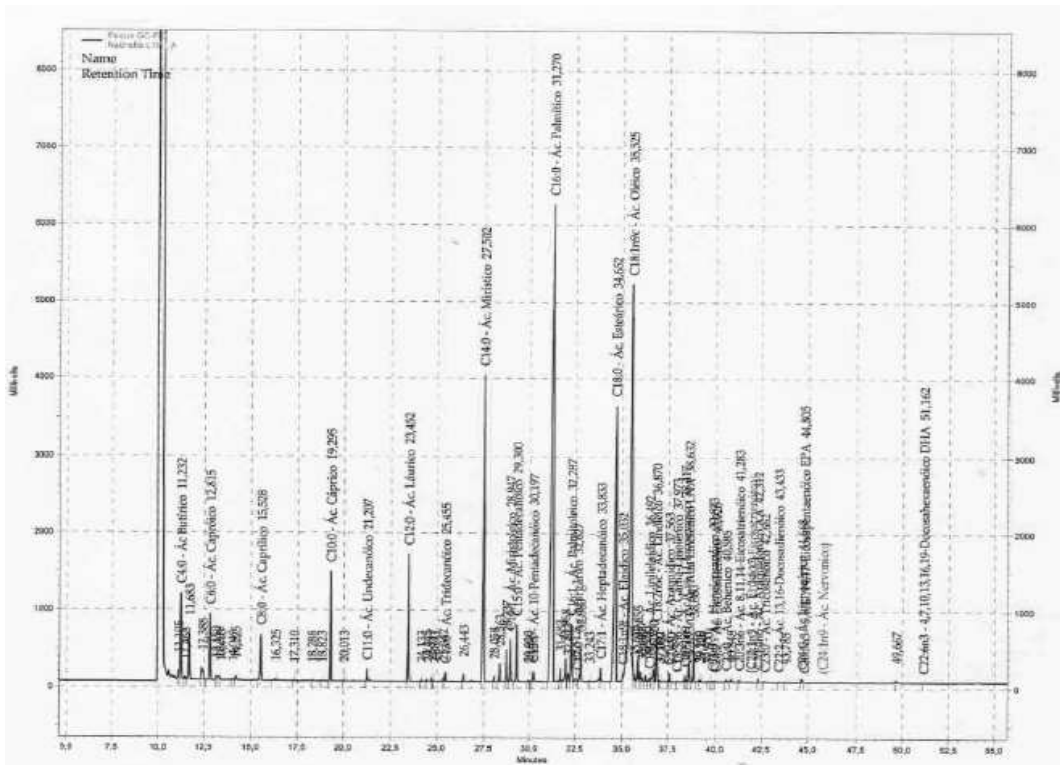
semelhantes pois os leites avaliados pelo projeto TACO e nos experimentos do projeto de dissertação não são oriundos da mesma região, os animais possivelmente não tiveram a mesma alimentação, o leite não foi obtido na mesma época do ano, além de todos os outros fatores anteriormente discutidos.

#### 4. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Para obter informações consistentes com relação à real influência do processo UHT e do desnatamento, sugere-se a realização de um estudo comparando um leite *in natura*, realizar o processo de esterilização UHT e desnatamento do mesmo leite e realizar a análise de ácidos graxos do leite nas três condições (*in natura*, desnatado e UHT), bem como uma composição centesimal para verificar a real influência destes processos neste produto.

Também, para avaliar a variação dos ácidos graxos nos produtos lácteos, poderia ser feita uma avaliação da composição de ácidos graxos desde a alimentação fornecida ao animal, no leite pós ordenhado, no leite após processo de esterilização (UHT, pasteurização, etc), após processo de desnate e semidesnate e em alguns produtos lácteos (iogurte, queijos, manteiga, etc) produzidos com este mesmo leite.

## 5. ANEXOS:



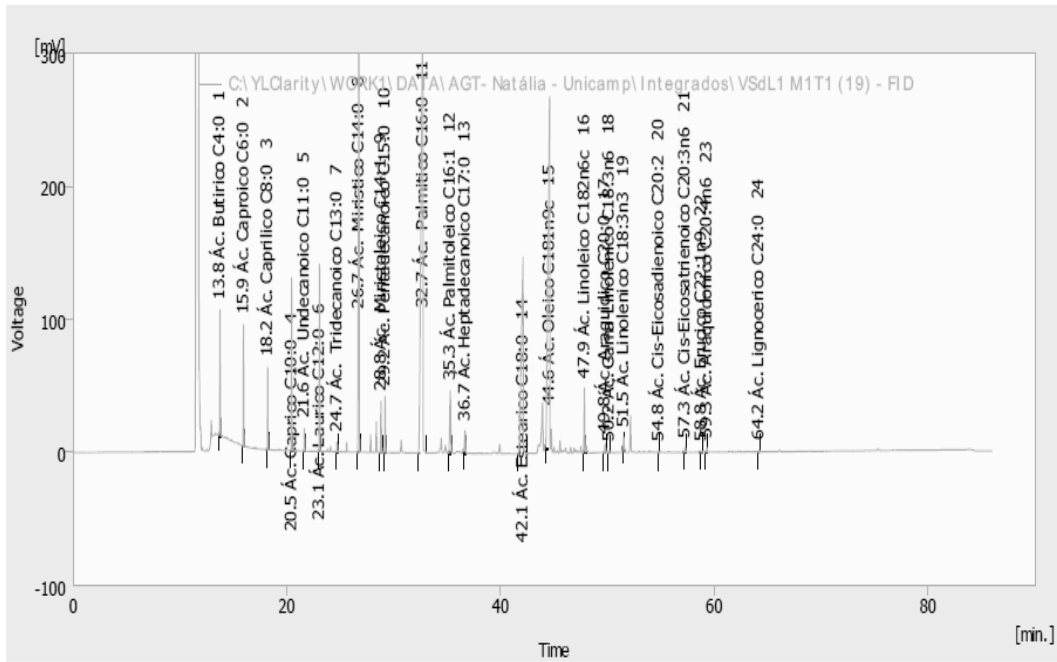


Figura 5.3.: Cromatograma de amostra de leite semidesnatado UHT de vaca (Marca 1–Lote 1).

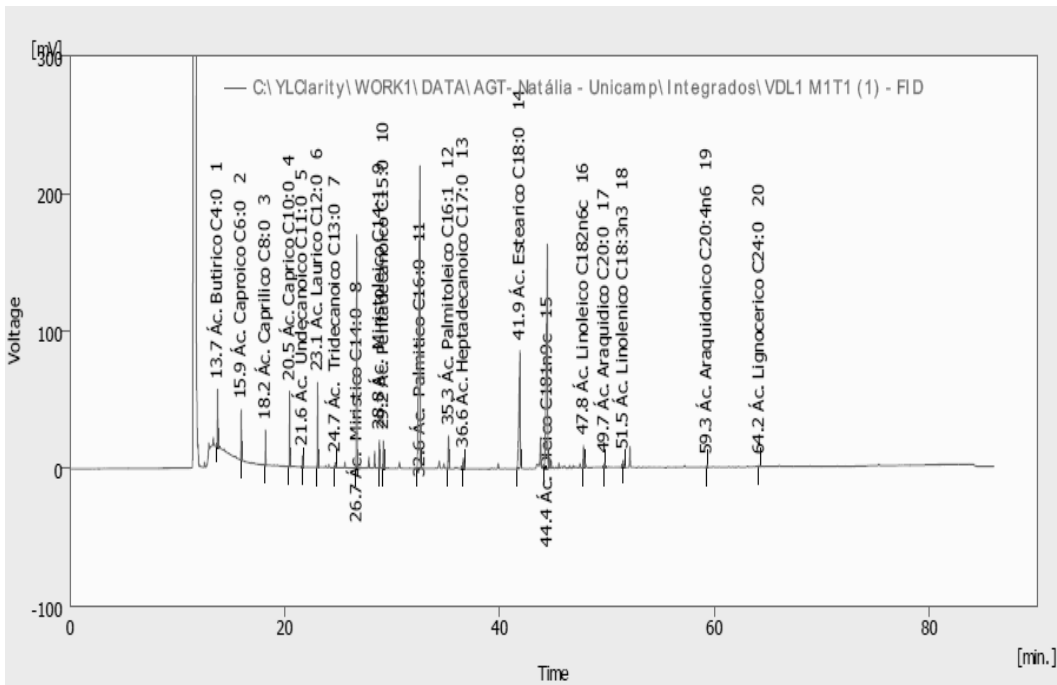


Figura 5.4: Cromatograma de amostra de leite desnatado UHT de vaca (Marca 1–Lote-1).

Tabela 5.1. Fatores de conversão de éster metílico de ácido graxo para ácido graxo

Ácido graxo	Fator de conversão FC <sub>AG</sub>
C 4:0 (ácido butírico)	0,863
C 6:0 (ácido capróico)	0,892
C 8:0 (ácido caprílico)	0,911
C10:0 (ácido cáprico)	0,925
C11:0 (ácido undecanóico)	0,930
C12:0 (ácido láurico)	0,935
C13:0 (ácido tridecanóico)	0,939
C14:0 (ácido mirístico)	0,942
C14:1 (ácido miristoleico)	0,942
C15:0 (ácido pentadecanóico)	0,945
C15:1 (ácido pentadecenóico)	0,945
C16:1 (ácido palmitoleico)	0,948
C17:0 (ácido margárico)	0,951
C17:1 (ácido heptadecenóico)	0,950
C18:0 (ácido esteárico)	0,953
C18:1 <i>cis</i> (ácido oléico)	0,953
C18:1 <i>trans</i> (ácido elaídico)	0,953
C18:2 <i>cis</i> (ácido linoleico)	0,952
C18:2 <i>trans</i> (ácido linolelaídico)	0,952
C18:3 <i>cis</i> (ácido linolênico)	0,952
C18:3 <i>trans</i> (ácido linolênico <i>trans</i> )	0,952
C20:0 (ácido araquídico)	0,957
C20:1 (ácido gadoleico)	0,957
C20:2 <i>cis</i> (ácido eicosadienóico)	0,957
C20:3 n3 (ácido eicosatrienóico n3)	0,956
C20:3 n6 (ácido eicosatrienóico n6)	0,956
C20:4 (ácido araquidônico)	0,956
C20:5 (ácido eicosapentaenóico)	0,956
C21:0 (ácido heneicosanóico)	0,959
C22:0 (ácido behênico)	0,960
C22:1 (ácido erúico)	0,960
C22:2 (ácido docosadienóico)	0,960
C22:6 (ácido docosahexaenóico)	0,959
C23:0 (ácido tricosanóico)	0,962
C24:0 (ácido lignocérico)	0,963
C24:1 (ácido nervônico)	0,963