

LEITE LIOFILIZADO DE VACA HOLANDESA ALIMENTADA COM RAÇÃO SUPLEMENTADA COM LINHAÇA

LYOPHILISATE DUTCH COW'S MILK FED WITH DIETS SUPPLEMENTED WITH LINSEED

LUCIMARA BERGAMO

Doutora em Ciências pela Universidade Estadual de Maringá (UEM) e Professora Adjunta da Faculdade Ingá.

* Rua Esmeralda, 698, Jardim Real, Maringá, Paraná, Brasil. CEP 87083-040. lucimarabergpan@hotmail.com

Recebido 31/07/2013. Aceito para publicação em 10/09/2013

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da liofilização na quantificação de ácidos graxos (AG) do leite oriundo de vacas da raça Holandesa submetidas a tratamentos com ração controle e suplementada com linhaça. A identificação e a quantificação dos AG foram realizadas por cromatografia a gás e os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando nível de significância a 5% e o teste de Tukey para comparação das médias. Com a inclusão da linhaça na ração dos animais, houve reduções nos teores de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e média (AGCM) do leite, com sequente diminuição dos ácidos graxos saturados (AGS); Por outro lado, os monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI) de cadeia longa aumentaram em relação ao controle. Foram observadas variações significativas de ácido linoleico conjugado entre os tratamentos, com aumento de até 49% em relação ao controle. Após a liofilização, os teores de todos os AG se mantiveram inalterados, indicando a possibilidade de preservar importantes componentes do leite, como os AG insaturados, de processos oxidativos e/ou degradativos, que ocorrem com o calor. Conclui-se, portanto, que a liofilização pode ser aplicada na obtenção de leite em pó resultando em um alimento funcional de alta qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: Leite em pó, liofilização, ácidos graxos essenciais, ácido linoleico conjugado (ALC).

ABSTRACT

This work aims to evaluate the effect of lyophilisate on quantification of fatty acids (FA) of dutch cow's milk race subjected to treatments with control and ration supplemented with linseed. The identification and quantification of FA were performed by chromatography gas and results were submitted to analysis of variance (ANOVA) using the 5% significance level and the Tukey test for comparison of means. With the inclusion of linseed in animal feed, there were reductions in the levels of short-chain fatty acids (SCFA) and average (MCFA), with video of saturated fatty acids; On the other hand, the monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) long chain

have increased relative to the control. Significant variations were observed of conjugated linoleic acid between treatments with an increase of up to 49% compared to the control. After lyophilisate, the levels of all FA remained unchanged, indicating the possibility of preserving important components, such as unsaturated, oxidative processes FA and/or degradative that occur with the heat. Thus, we concluded that the lyophilisate can be applied to obtain milk powder resulting in a functional food of high quality.

KEYWORDS: Powdered milk, lyophilisate. essential fatty acids, conjugated linoleic acid (CLA).

1. INTRODUÇÃO

Produzir alimentos com propriedades funcionais através do seu enriquecimento com produtos de natureza benéfica à saúde e de alta qualidade é uma forte tendência atualmente. Os pesquisadores e as indústrias de alimentos têm sido estimulados a realizar tais pesquisas e o leite de vaca é um dos alimentos que tem sido objeto dessas pesquisas, pois além de ser considerado fundamental à saúde devido sua riqueza em nutrientes, é também muito utilizado na indústria dos derivados lácteos em geral. Na sua constituição química, estão presentes minerais importantes como o cálcio e o fósforo, essenciais na manutenção e formação óssea, proteínas de alta digestibilidade, carboidratos, vitaminas e lipídios¹. Logo, suplementar a ração dos ruminantes com fontes de lipídios insaturados como canola, girassol, linhaça, soja, sais de cálcio de óleo de peixe etc., tem sido cada vez mais frequente^{2,3}. Nessas pesquisas observou-se a melhora do perfil lipídico do leite através do incremento dos AGMI e AGPI e, portanto, o uso de fontes oleaginosas na dieta de vacas em lactação como grandes promissoras em diminuir os AGS e aumentar os teores de AGPIs no leite, incluindo os ácidos rumênicos, tem sido indicado⁴.

Antigamente, a gordura do leite era vista como uma vilã para a saúde, mas hoje se sabe que um tipo de gordura especial presente no leite de ruminantes, o ácido linoleico conjugado (CLA, do inglês *Conjugated Linoleic Acid*), é um grande aliado na prevenção de doenças cancerígenas, do diabetes *mellitus*, no combate à obesidade, além de desencadear estímulos de resposta imune contra a arteriosclerose e apresentar propriedades hipocolesterolêmicas⁵. Portanto, aumentar o teor dos AGPIs como o linoleico (n-6) e o alfa-linolênico (n-3), importantes ácidos graxos essenciais, e o CLA na gordura do leite fazem dele um alimento funcional, imprescindível na alimentação humana, devido suas contribuições para a saúde.

Entretanto, não é tão simples manipular a alimentação dos ruminantes para que haja melhora na composição lipídica do leite, pois eles apresentam um complexo sistema poligástrico em que a bio-hidrogenação ruminal é um empecilho na incorporação dos ácidos graxos poli-insaturados fornecidos na dieta. Segundo Lock & Bauman (2004)⁶, ácidos graxos poli-insaturados como o eicosapentaenóico (EPA) e o docosahexaenóico (DHA) são transferidos da dieta para o leite em quantidades menores do que 4% do total fornecido. Porém, muitas pesquisas já foram realizadas tendo como objetivos esclarecer os mecanismos da bio-hidrogenação de forma que esta seja amenizada e os AGPIs possam ser incorporados ao leite com maior eficiência^{7,8,9}. Ou ainda, que a bio-hidrogenação seja parcialmente evitada de maneira a aumentar a incorporação do CLA no leite¹⁰.

Geralmente os ácidos graxos essenciais são encontrados em pequenas quantidades tanto na carne quanto no leite de ruminantes. E como alguns vegetais como a canola, o girassol, a soja e a linhaça são fontes ricas desses ácidos, a sua concentração no leite pode aumentar se os animais forem alimentados com dietas suplementadas com os mesmos. A linhaça, por exemplo, possui cerca de 60% do total de gorduras em AG de ácido α -linolênico (18:3n3)¹¹ e alguns experimentos foram realizados utilizando-a como fonte de AGPIs na dieta de ruminantes^{12,13}.

No entanto, o leite cru, como é obtido, não é considerado próprio para o consumo humano. Isso se deve ao seu alto teor de água, o que faz dele um ambiente propício para o desenvolvimento bacteriano, sendo indispensável à realização de tratamentos de conservação após sua ordenha que o torne apto para o consumo¹⁴. De maneira geral, o processamento do leite inclui a ordenha, o tratamento térmico, a homogeneização e embalagem. Dentre os vários tipos de conservação do leite destacam-se: a pasteurização, a esterilização, a ultrapasteurização, conhecida como UAT ou UHT (ultra-alta temperatura), evaporação, condensação, fermentação e a desidratação ou secagem¹.

Portanto, até chegar ao consumidor, o leite passa por

processos térmicos variados de conservação, o que nem sempre permite preservar importantes constituintes do leite original. Até o momento atual, utilizam-se os processos da pasteurização e da ultrapasteurização no leite fluido e do *spray drying* na obtenção do leite em pó^{15,16}. Mas estes não mantêm integralmente a qualidade do leite de origem e durante o processo de secagem do leite é necessária a utilização de alta temperatura para evaporar a água presente no produto. O aquecimento é um dos principais fatores de oxidação de lipídios^{17,18} e não seria compensatório, por exemplo, produzir o leite como um alimento funcional se no seu processamento final, este provocar a perda de seus nutrientes.

Assim, a liofilização seria uma boa alternativa para a obtenção de leite em pó. Ela é uma das tecnologias mais nobres no processo de conservação de produtos alimentares porque envolve os dois métodos mais confiáveis de conservação, o congelamento e a desidratação, baseada no fenômeno da sublimação. Este processo tem como principal vantagem, quando comparado com o processo convencional de secagem via *spray drying*, a manutenção da composição do material, pois a umidade é removida a baixas temperaturas, com a garantia da ausência ou minimização de várias reações de degradação, devido à fácil transição de material hidratado para desidratado de boa qualidade, mantendo a estabilidade do produto durante a estocagem e transporte¹⁹.

Dessa forma, neste trabalho, a liofilização surge como uma proposta original e interessante, ideal e de alta tecnologia, na produção do leite em pó como um produto funcional mantendo todas as suas qualidades nutricionais.

O objetivo dessa pesquisa, portanto, foi o de avaliar o efeito da liofilização sobre a quantificação de ácidos graxos do leite obtido a partir da suplementação de linhaça na dieta de vacas leiteiras da raça holandesa.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Leite fluido e em pó

Amostras de leite de vaca da raça Holandesa foram obtidas da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM) e, posteriormente, analisadas no Laboratório CromAlimentos do Departamento de Química da UEM. As dietas das vacas submetidas à pesquisa foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais do *Nutrition Research Concil*¹¹, contendo 5% em peso de linhaça, consistindo nos seguintes tratamentos: linhaça moída (L1), linhaça moída/peletizada (L2) e controle (C). No tratamento controle, as vacas foram submetidas somente à pastagem.

O leite em pó, das amostras anteriormente descritas, foi obtido por liofilização utilizando o liofilizador Christ Alpha 1-4 LD (Germany) pertencente ao laboratório de

Farmacognosia do Departamento de Farmácia e Farmacologia da UEM.

Identificação e quantificação dos AG dos leites fluidos e em pó

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram obtidos conforme metodologia descrita por Hartman & Lago (1973)²⁰ e analisados através do cromatógrafo a gás CP-3380 (Varian, EUA), equipado com detector por ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida Select FAME (CP-7420, Varian EUA), com as seguintes dimensões: 100 m, 0,25 mm d.i., 0,39 µm de fase estacionária 100% cianopropil ligado. A temperatura da coluna foi programada iniciando a 65°C por 4 minutos, sendo elevada a 170 °C numa taxa de 20 °C/min. Essa temperatura foi mantida durante 20 minutos, e finalmente foi elevada a 235 °C a uma taxa de 6 °C/min sendo esta temperatura mantida por 6 minutos. O tempo total da análise cromatográfica foi de 46 minutos. As áreas dos picos foram determinadas pelo software *Star Workstation Varian* versão 5.0. As temperaturas do injetor e detector foram mantidas a 225 °C e 245 °C, respectivamente. Os fluxos dos gases (White Martins) foram de 1,2 mL/min para o gás de arraste (H₂) com pressão de 40 psi na entrada da coluna; 30 mL/min para o gás auxiliar (N₂) e 30 mL/min e 300 mL/min para o H₂ e para o ar sintético da chama, respectivamente. A razão de divisão da amostra (split) foi de 1/100. Os volumes de injeção nas análises foram de 2 µL sendo estas realizadas em triplicatas. A identificação dos ácidos graxos foi feita por comparação dos tempos de retenção dos picos cromatográficos ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) com os de uma mistura de 37 padrões de EMAG (189-19 Sigma, EUA) e com os de padrões dos CLAs c9t11 e t10c12, da Sigma EUA (O-5626); por coeluição (spiking) de padrões individuais junto com as amostras e pelo método do índice de retenção de Kovats, com determinação dos parâmetros de retenção do comprimento equivalente da cadeia (CEC) carbônica dos ácidos graxos²¹. Os limites de detecção e quantificação foram estabelecidos conforme Lanças (2004)²², considerando a razão sinal/ruído igual a 3 e 10, respectivamente, a partir de diluições sucessivas de uma solução padrão de araquidato de metila.

Para verificar a resposta diferencial do detector por ionização em chama foi realizada determinação do fator de correção experimental a partir da análise cromatográfica de uma mistura de padrões (189-19, Sigma, EUA) contendo quantidade conhecida de 37 EMAG. O fator de correção experimental obtido foi comparado com o fator de correção teórico (FCT) a fim de avaliar a otimização do detector.

A análise quantitativa dos EMAG foi realizada usando como padrão interno o éster metílico do ácido

tricosanóico (C23:0) (Sigma, EUA). Antes da esterificação, foi colocado 500 µL do padrão interno tricosanoato de metila (de concentração 1 mg.mL⁻¹) em todas as amostras e a seguir o solvente foi evaporado sob fluxo de N₂. A quantificação, em mg.g⁻¹ de lipídios, para os ácidos graxos foi feita através da metodologia sugerida por Joseph & Ackman (1992)²³.

Foi analisado também material de referência certificado (leite em pó) para confirmação da exatidão do método utilizado. O material de referência (RM-8435) foi obtido do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia do Canadá (NIST).

Os resultados obtidos dos experimentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando nível de significância de 5%, através do Software SAS²⁴ versão 8.3 e o teste de Tukey foi utilizado para comparar os valores médios.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os resultados da quantificação dos ácidos graxos encontrados nos leites oriundos dos 2 tratamentos mais o controle. Foram detectados e quantificados 28 ácidos graxos. Os resultados de cada amostra encontram-se expressos em mg.g⁻¹ de lipídios como média ± desvio padrão das análises realizadas em triplicatas para 4 diferentes lotes (n=12). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Observaram-se mudanças (p<0,05) na quantificação dos ácidos graxos presentes na gordura do leite quando comparadas à dieta controle. Reduções significativas ocorreram na concentração dos AGCC e AGCM (C4:0 a C16:0) para os 2 tratamentos com sequente diminuição do somatório dos ácidos graxos saturados. As reduções observadas foram em média de 14,7% e 16,0% para os tratamentos L1 e L2, respectivamente. Esses resultados podem ser explicados considerando que os AGCC e AGCM são sintetizados a partir de acetato e butirato no rumem, mas a formação destes compostos é reduzida na presença de uma dieta rica em oleaginosas^{25,26}.

A utilização da linhaça na ração também afetou a concentração do ácido esteárico (C18:0) no leite, que aumentou (p<0,05) em relação ao controle. A variação também foi significativa para os ácidos palmitoléico (C16:1n9) e oléico (C18:1n9), resultando no aumento dos teores de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) na gordura do leite nos 2 tratamentos. Estes corresponderam a 38,2% e 29,9%, respectivamente, para os tratamentos L1 e L2.

Os resultados encontrados se assemelham aos obtidos por De Peters *et al.* (2001)²⁷ em que maiores concentrações de ácido esteárico e oléico foram observadas quando vacas receberam ração suplementada com óleo de oleaginosas, como a canola.

Tabela 1. Efeito do tratamento na composição de ácidos graxos em mg.g⁻¹ de lipídios totais presentes nas amostras de leite fluido oriundas do tratamento de linhaça e controle

AMOSTRA	C	L1	L2
AG			
C4:0	19,56 ^a ± 1,19	11,14 ^b ± 0,12	10,40 ^c ± 0,38
C6:0	23,70 ^a ± 1,26	9,43 ^b ± 0,10	8,97 ^b ± 0,37
C8:0	16,08 ^a ± 0,87	4,91 ^b ± 0,07	4,18 ^c ± 0,16
C10:0	31,13 ^a ± 1,36	10,62 ^b ± 0,34	9,82 ^c ± 0,40
C11:0	4,83 ^a ± 1,23	1,21 ^b ± 0,02	ND
C12:0	29,73 ^a ± 0,45	13,02 ^b ± 0,02	11,54 ^c ± 0,33
C14:0	89,55 ^a ± 1,43	51,17 ^b ± 0,53	48,81 ^c ± 2,87
C14:1n9	13,90 ^a ± 0,22	3,36 ^b ± 0,06	3,18 ^c ± 0,11
C14:1n7	ND	3,41 ^a ± 0,04	2,70 ^b ± 0,09
C14:1n5	7,44 ^a ± 0,13	5,03 ^b ± 0,01	5,14 ^b ± 0,06
C15:0	14,15 ^a ± 0,21	8,82 ^b ± 0,10	7,98 ^c ± 0,28
C15:1n5	2,61 ^a ± 0,03	2,27 ^b ± 0,06	1,77 ^c ± 0,00
C16:0	232,00 ^a ± 2,98	171,42 ^b ± 2,86	174,76 ^b ± .07
C16:1n9	2,42 ^a ± 0,24	2,14 ^b ± 0,02	2,17 ^b ± 0,03
C16:1n7	13,65 ^a ± 0,20	7,05 ^c ± 0,01	7,83 ^b ± 0,25
C16:1n5	4,69 ^a ± 0,06	3,06 ^c ± 0,01	3,75 ^b ± 0,09
C17:0	5,35 ^a ± 0,12	3,69 ^b ± 0,10	3,69 ^b ± 0,05
C17:0	5,37 ^a ± 0,04	5,06 ^b ± 0,11	5,03 ^b ± 0,03
C17:1n7	2,49 ^a ± 0,05	1,68 ^c ± 0,00	1,95 ^b ± 0,14
C18:0	87,76 ^b ± 1,61	186,39 ^a ± 4,36	183,93 ^a ± 5,51
C18:1t9	9,83 ^a ± 0,24	17,12 ^b ± 0,54	15,45 ^c ± 0,35
C18:1n9	175,69 ^c ± 3,62	284,02 ^a ± 0,81	264,25 ^b ± .31
C18:1n7	4,37 ^a ± 0,08	2,05 ^c ± 0,00	2,42 ^b ± 0,07
C18:2t9,t12	1,28 ^b ± 0,16	4,93 ^a ± 0,30	4,85 ^a ± 0,22
C18:2n6	13,51 ^a ± 0,09	10,03 ^c ± 0,07	11,66 ^b ± 0,46
C18:3n3	2,06 ^c ± 9,91e ⁻³	7,03 ^b ± 0,03	7,93 ^a ± 0,27
C20:0	1,38 ^b ± 0,04	1,51 ^a ± 3,62e ⁻⁴	1,50 ^a ± 0,09
C18:2c9,t11	5,86 ^c ± 0,04	8,71 ^a ± 0,00	7,22 ^b ± 0,21
ΣAGS	560,61 ^a ±12,77	478,38 ^b ± 7,67	470,62 ^b ± 14,9
ΣAGMI	227,27 ^c ± 4,64	314,08 ^a ± 0,73	295,17 ^b ± .83
ΣAGPI	15,57 ^c ± 0,10	17,06 ^b ± 0,03	19,59 ^a ± 0,73
ΣAGT	11,11 ^c ± 0,40	22,05 ^a ± 0,85	20,30 ^b ± 0,57
Σn-6	13,51 ^a ± 0,09	10,03 ^c ± 0,07	11,66 ^b ± 0,46
Σn-3	2,06 ^c ± 9,91e ⁻³	7,03 ^b ± 0,03	7,93 ^a ± 0,27
ΣCLA	5,86 ^c ± 0,038	8,71 ^a ± 0,00	7,22 ^b ± 0,21
n-6/n-3	6,56 ^a ± 0,014	1,43 ^c ± 0,02	1,47 ^b ± .0079
AGPI/AGS	0,028 ^c ±8,25e ⁻⁴	0,036 ^b ±5,02e ⁻⁴	0,042 ^a ± .22e ⁻⁴

C: controle; L1: linhaça moída; L2: linhaça moída peletizada. AGS: ácidos graxos saturados; AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; AGT: ácidos graxos trans; n-6 e n-3: ácidos graxos das famílias ômega -6 e ômega -3, respectivamente. ND: Não detectado; AGS: ácidos graxos saturados; AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; AGT: ácidos graxos trans; n-6 e n-3: ácidos graxos das famílias ômega -6 e ômega -3, respectivamente. ND: Não detectado.

A explicação para tal resultado se deve a bio-hidrogenação ruminal dos AGI presentes na fonte oleaginosa e, segundo Maia *et al.* (2006)²⁸, os AG 18:1n9, 18:2n6 e 18:3n3, em conjunto, contribuem para aumentar a extensão da bio-hidrogenação ruminal. Nas pesquisas feitas por estes autores, também foram observados aumentos nos teores de ácido linoléico (18:2n6), α-linolênico (18:3n3) e CLA no leite de ruminantes, o que está de acordo com os resultados obtidos neste estudo e que são descritos a seguir.

As concentrações dos AGPIs aumentaram em relação ao controle, mas foi significativo apenas em L2. O teor de AAL (18:3n3) foi maior (p<0,05) nos 2 tratamentos

quando comparado ao controle e corresponderam a 241% e 285%, em média, em relação à dieta controle. Quanto ao teor do ácido linoléico conjugado (CLA, C18:2 cis-9 trans-11), seu aumento na gordura do leite também foi significativo nos 2 tratamentos quando comparados ao controle e correspondeu a 48,6% e 23,2%, respectivamente para L1 e L2.

O CLA é produzido no rumem a partir de reações de isomerização e redução através da atuação das enzimas microbianas sobre os substratos oriundos da dieta como o n6 e o n3. Entretanto, a capacidade ruminal pode ser excedida quando se tem grande quantidade de AGPI na dieta e, portanto, alguns produtos intermediários são absorvidos pelo intestino e movendo-se pela corrente sanguínea podem ser incorporados nas reservas de gordura do tecido adiposo e da glândula mamária²⁹. Nestes, pode ocorrer a dessaturação do 18:1, trans-11 (ácido trans-vacênico) pela enzima Δ-9 dessaturase ou estearoil-CoA redutase sendo convertido a CLA para ser incorporado na gordura do leite. Logo, pode-se dizer que o CLA encontrado no leite de ruminantes é formado como um dos produtos intermediários no processo de bio-hidrogenação no rumem e também a partir da atuação da enzima estearoil-CoA redutase sobre a conversão de 18:1 trans-11 absorvido a 18:2 cis-9, trans-11 no tecido adiposo, principalmente na glândula mamária em vacas leiteiras^{30,31}.

Portanto, espera-se que quanto maior for a concentração de 18:2n6 e 18:3n3 na dieta, maior será a probabilidade de elevar a concentração de CLA na gordura do leite, o que ficou evidenciado neste estudo. Logo, o aumento observado nos teores de ácidos graxos insaturados e de CLA quando as vacas receberam suplemento de oleaginosa como a linhaça está de acordo com pesquisas feitas em que a utilização de grãos como a canola, girassol, soja e linhaça como suplemento na ração de animais, resultou em maiores concentrações dos ácidos graxos insaturados n6, n3 e sequente redução da razão n6/n3, tanto na carne como no leite^{32,33,34}.

Quanto às razões n6/n3, reduções (p<0,05) na gordura do leite foram verificadas nos 2 tratamentos em relação ao controle. As diminuições corresponderam a 78,2% e 77,6%, respectivamente, para L1 e L2. Por outro lado, as razões AGPI/AGS aumentaram significativamente na gordura do leite com acréscimos observados de 28,6% e 50%, respectivamente para L1 e L2. A forma da ração consumida, moída ou moída peletizada parece não ter influenciado no teor de AG, contudo, estudos mais detalhados seriam necessários para verificar possíveis efeitos.

Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram que a utilização da linhaça como suplemento na ração fornecida a vacas lactantes contribuiu para produzir leite com maior quantidade de ácidos graxos insaturados. Esses suplementos usados na alimentação de vacas em lacta-

ção pode ser uma ótima estratégia para se alterar e/ou melhorar o perfil lipídico do leite, diminuindo a concentração dos ácidos graxos saturados e elevando a concentração dos ácidos graxos insaturados através da manipulação da bio-hidrogenação ruminal. Este resultado atende a demanda por leite com elevadas quantidades de gorduras insaturadas e ricos em CLA. Além do que, promove ao mesmo a designação de alimento com propriedades funcionais e proporciona a produção de derivados lácteos de alta qualidade, o que reflete com as exigências do consumidor atual.

Após o processo da liofilização a que foram submetidas as amostras de leite dos 2 tratamentos mais o controle, obteve-se o leite em pó cujo aspecto físico apresentado foi em forma de flocos de coloração branca. As figuras 1, 2 e 3 mostram, respectivamente, os resultados da quantificação para os somatórios dos AGS, AGMI e AGPI para as amostras liofilizadas em conjunto com os resultados obtidos antes do processo de desidratação para efeito de comparação.

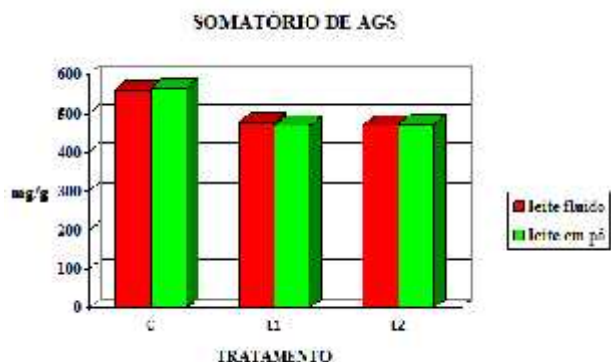


Figura 1. Total de AGS em mg.g⁻¹ de lipídios presentes nos leites oriundos dos tratamentos, antes e após a liofilização.

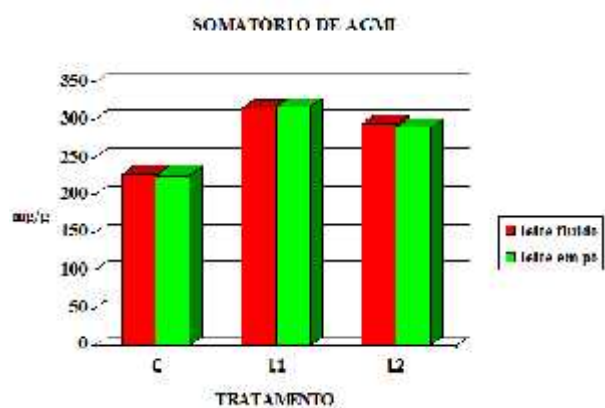


Figura 2. Total de AGMI em em mg.g⁻¹ de lipídios presentes nos leites oriundos dos tratamentos, antes e após a liofilização.

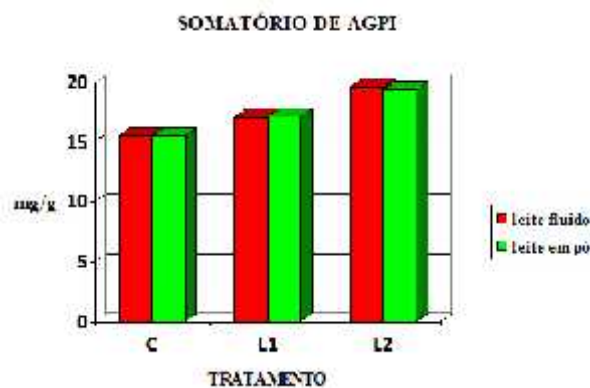


Figura 3. Total de AGPI em mg.g⁻¹ de lipídios presentes nos leites oriundos dos tratamentos, antes e após a liofilização.

Não houve variações significativas no teor dos ácidos graxos quantificados quando comparados com os mesmos antes do processo de secagem, resultados estes apresentados através dos somatórios dos AG analisados. Resultado semelhante foi observado quanto ao teor de CLA, em que após a liofilização, a variação também foi não significativa em todos os tratamentos (Figura 4).



Figura 4. Teor de CLA em mg.g⁻¹ de lipídios presentes nos leites oriundos dos tratamentos, antes e após a liofilização.

Na literatura revisada, não foram encontrados relatos sobre experimentos com aplicação da liofilização em amostras de leite.

No entanto, liofilizar alimentos é uma técnica cada vez mais utilizada atualmente^{19,35}, pois durante o processo não ocorre quaisquer alterações nas propriedades físico-químicas e mesmo sensoriais do produto. A facilidade de transporte e armazenamento, além da manutenção integral dos nutrientes faz dessa técnica uma das mais inovadoras na área dos alimentos.

Além disso, a importância da perda de nutrientes durante o processamento depende do valor nutricional do alimento que faz parte da dieta. O leite, por exemplo, na cultura ocidental e em países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil, é considerado um alimento com alta disponibilidade de nutrientes para um grande número de pessoas. Portanto, perdas de vitaminas e outros compo-

centes importantes, como os ácidos graxos essenciais e o CLA, são mais significativas nesses alimentos do que naqueles em que existem baixas concentrações de nutrientes e são consumidos em pequenas quantidades¹⁹.

Dessa forma, a proposta original deste trabalho era verificar como a liofilização influenciaria no perfil e na quantificação dos ácidos graxos do leite, principalmente com relação aos insaturados, que são mais propensos a reações oxidativas. E, do ponto de vista econômico, não seria vantajoso produzir leite enriquecido com produtos funcionais, se no processo de conservação houvesse perdas desses importantes constituintes originais.

Portanto, através dos resultados obtidos neste experimento, sugere-se que essa tecnologia pode ser considerada uma nova proposta na obtenção de leite em pó, visto que no processo são mantidos importantes nutrientes do leite como é o caso dos lipídios insaturados.

4. CONCLUSÃO

Suplementar a dieta de vacas em lactação com fontes oleaginosas como a linhaça, pode ser uma ótima estratégia para se obter o leite como um alimento funcional. A afirmação se deve ao incremento observado no teor de ácidos graxos insaturados essenciais, além do isômero do CLA cis9t11, nos lipídios do leite, indispensáveis numa dieta saudável. Após a aplicação da liofilização na obtenção de leite em pó, não foi observada nenhuma alteração significativa tanto no perfil quanto na quantificação dos ácidos graxos do leite para todas as amostras. Estes resultados sugerem a sua utilização com segurança em leites desenvolvidos com propriedades funcionais, e devido à manutenção de todos os ingredientes originais do leite, o processo representa a obtenção de um alimento mais saudável e ao setor industrial, um produto com maior valor agregado.

REFERÊNCIAS

- [1].Fox PF, McSweeney PLH. Dairy Chemistry and Biochemistry. London: Chapman & Hall; 1998.
- [2].Bell JA, Griinari JM, Kennely JJ. Effect of Safflower Oil, Flaxseed Oil, Monensin, and Vitamin E on Concentration of Conjugated Linoleic Acid in bovine Milk Fat. *J Dairy Sci* 2006; 89: 733-48.
- [3].Castañeda-Gutiérrez E, Veth MJ, Lock AL, Dwyer DA, Murphy KD, and Bauman DE. Effect of Supplementations with Calcium Salts of Fish Oil on n-3 Fatty Acids in Milk Fat. *J Dairy Sci* 2007; 90:4149-56.
- [4].Dhiman TR, Satter LD, Pariza MW, Galli MP, Albright K., Tolosa MX. Conjugated Linoleic Acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J Dairy Sci* 2000; 83(5):1016-27.
- [5].Wahle KW, Heys J, Rotondo SD. (2004). Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research* 2004; 43:553-87.
- [6].Lock AL, Bauman DE. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 2004; 39:1197-1206.
- [7].Neves CA, Santos GT, Matsushita M, Alves EM, Oliveira RL, Branco AF, et al. Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. *Anim Feed Sci Technol* 2007;134:32-44.
- [8].Silva DC, Santos GT, Branco AF, Damasceno JC, Kazama R, Matsushita M. et al. Production performance and milk composition of dairy cows fed whole or ground flaxseed with or without monensin. *J Dairy Sci* 2007; 90(6):2928-36.
- [9]. Chouinard PY, Girard V, Brisson GJ. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybean using various processing methods. *J Dairy Sci* 1997; 80:334-42.
- [10]. Piperova LS, Moallem U, Teter BB, Sampugna J, Yurawecz MP, Morehouse KM. et al. Changes in milk fat in response to dietary supplementation with calcium salts of trans-18:1 or conjugated linoleic fatty acids in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87(11):3836-44.
- [11].National Research Council – NRC. 7th ed. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington, D.C.: National Academic Press; 2001.
- [12]. Ueda K, Ferlay A, Chabrot J, Looor JJ, Chilliard Y, Doreau M. Effect of Linseed Oil Supplementation on Ruminant Digestion in Dairy Cows Fed Diets with Different Forage:Concentrate Ratios. *J Dairy Sci* 2003; 86:3999-4007.
- [13]. Petit HV. Antioxidants and dairy production: the example of flax. *R Bras Zootec* 2009; 38:352-61. Supl especial.
- [14]. Rankell AS, Lieberman HA, Schiffman RF. Secagem. In: L. Lachman, H. A. Lieberman, and J. L. Kanig. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Calouste Gulbenkian; 2001.
- [15].Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o Regulamento Técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado tipo C refrigerado. *Diário Oficial da União, Brasília* 20 set 2002. Seção 1.
- [16].Brandão SCC. Tecnologia da produção de leite em pó - 1ª parte. Leite e derivados. 1994; 17:49-57.
- [17]. Frankel EN, Huang SW. Improving the oxidative stability of polyunsaturated vegetable oils by blending with high oleic sunflower oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 1994; 71(3):255-9.
- [18].Angelo AJ. Lipid oxidation in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1996; 36(3):175-224.
- [19]. Felows PJ. Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e prática. 2.ed. Porto Alegre: Artmed; 2006.
- [20]. Hartman L and Lago RCA. Rapid determination of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*. 1973; 22:475-7.
- [21].Collins CH, Braga GL, Bonato PS. Introdução a Métodos Cromatográficos. 4.ed. Campinas: Unicamp; 1990.
- [22]. Lanças FM. Validação de métodos cromatográficos de análise. São Carlos: Rima. 6; 2004.
- [23]. Joseph JD and Ackman RG. Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 1992; 75:488-506.

- [24]. SAS - STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. User's Guide: Statistics, Version 8.3. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- [25]. Johnson Junior JC, Utley PR, Mullinix Junior BG, Merrill AI. Effects of adding fat and lasalocid to diets of dairy cows. *J Dairy Sci.* 1988; 71: 2151-65.
- [26]. Cant JP, Fredeen AH, Macintyre T, Gunn J, Crowe N. Effect of fish oil on milk composition in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science.* 1997; 77:125-31.
- [27]. De Peters EJ, German JB, Taylor SJ. Fatty acid and triglyceride composition of milk fat from lactating Holstein cows in response to supplemental canola oil. *J Dairy Sci.* 2001; 84:929-36.
- [28]. Maia FJ, Branco AF, Mouro GF, Coneglian SM, Santos GT, Minella TF et al. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite. *R Bras Zootec.* 2006; 35:1504-13.
- [29]. Griinari JM, Bauman DE. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk of ruminants. 180–200. In: Yurawecz MP, Mossoba MM. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research.* 1999;1.
- [30]. Schmid A, Collomb M, Sieber R, Bee G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. *Meat Science.* 2006; 73:29-41.
- [31]. Aydin R. Conjugated linoleic acid: chemical structure, sources and biological properties. *Turk J Vet Anim Sci.* 2005; 29:189-95.
- [32]. Luna P, Bach A, Juárez M, De La Fuente MA. Effect of a Diet Enriched in Whole Linseed and Sunflower Oil on Goat Milk Fatty Acid Composition and Conjugated Linoleic Acid Isomer Profile. *J Dairy Sci.* 2008; 91:20–8.
- [33]. Grande PA, Alcalde CR, De Lima LS, Ayer IM, Macedo FAF, Matsushita M. Características quantitativas da carcaça e qualitativas do músculo Longissimus dorsi de cabritos $\frac{3}{4}$ Boer + $\frac{1}{4}$ Saanen confinados recebendo rações conforme grãos de oleaginosas. *R Bras Zootec.* 2009; 38(6):1104-13.
- [34]. Loor JJ, Ueda K, Ferlay A, Chilliard Y, Doreau M. Short Communication: Diurnal Profiles of Conjugated Linoleic Acids and Trans Fatty Acids in Ruminal Fluid from Cows Fed a High Concentrate Diet Supplemented with Fish Oil, Linseed Oil, or Sunflower Oil *J Dairy Sci.* 2004; 87(8):2468–71.
- [35]. Harris T. Como funciona a secagem por congelamento a vácuo (liofilização). How stuff Works [periódicos na internet]. 2013 jul [acesso em 24 jul 2013]; Disponível em: <http://lazer.hsw.uol.com.br/secagem-por-congelamento2.htm>.

