

COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACA DE DIFERENTES RAÇAS *

Elza S. Gastaldo BADOLATO **

Franca DURANTE **

Maria Elisa W. ALMEIDA **

RIALAG/483

BADOLATO, E. S. G.; DURANTE, F. & ALMEIDA, M. E. W. — Composição dos ácidos graxos do leite de vaca de diferentes raças. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(2):127-135, 1979.

RESUMO: A cromatografia em fase gasosa foi aplicada para a identificação e determinação dos ácidos graxos de diferentes raças bovinas. Foram analisadas amostras de leite das raças Jersey, Gir, Holstein (holandesa) e Canchim, sendo esta última uma raça nova desenvolvida no Brasil por cruzamento das raças charolês e Indubrasil. Os seguintes ácidos graxos foram identificados: butírico, caprótico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, palmitoléico, C₁₇, esteárico, oléico, linoléico, araquídico e linolênico. Ainda, nos cromatogramas foi constatada a presença de outros picos, provavelmente correspondendo aos ácidos graxos: caprícoléico, lauroléico, C₁₃, miristoléico e C₁₅. Para a determinação da porcentagem relativa dos diferentes ácidos graxos foi empregado o processo de normalização interna. Os ácidos graxos presentes em maior quantidade nas quatro raças estudadas foram: mirístico, palmítico, esteárico e oléico. Não foi constatada diferença apreciável, através deste estudo, entre as amostras de leite da raça Canchim e as das demais raças estudadas.

DESCRITORES: leite, determinação de ácidos graxos por cromatografia em fase gasosa; ácidos graxos em leite, determinação por cromatografia em fase gasosa.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da cromatografia em fase gasosa tornou possível o esclarecimento da composição de um grande número de compostos. Entre muitos estudos específicos, possibilitou um grande avanço na elucidação das misturas de ácidos graxos de óleos e gorduras.

O primeiro trabalho citado na literatura sobre a separação e identificação de alguns ácidos graxos da gordura de leite foi realizado

por JAMES & MARTIN ⁴, em 1956, que trabalharam com leite de cabra. Contudo, sobre a composição da gordura de leite de vaca poucos trabalhos são conhecidos.

SMITH ⁸, em 1961, analisando os ácidos graxos da gordura do leite de vaca, considerou o problema muito difícil devido ao grande número de ácidos graxos presentes e à complexa mistura existente, variando de ácidos graxos com pequeno número de átomos de carbono até com grande número de átomos de carbono.

* Realizado na Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Apresentado ao 13.º Congresso Latino-americano de Química, realizado em Lima, Peru, de 15 a 20 de outubro de 1978.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

Esta mistura é constituída de ácidos graxos saturados, não saturados, com cadeias simples e ramificadas e isômeros.

GANDER *et alii*², em 1962, que também trabalharam com ácidos graxos extraídos da gordura de leite, observaram que a maior dificuldade consistia na perda de parte dos ácidos graxos de cadeia curta durante o processo de metilação, e também na separação dos picos dos referidos ácidos.

Este problema foi por eles solucionado usando dois processos de esterificação e duas colunas diferentes.

JENSEN *et alii*⁵ na determinação da composição dos ácidos graxos da gordura do "pool" de leite de vaca também usaram esse mesmo artifício.

Vários autores como HANSEN & SHORLAND³ e WEBB & JOHNSON¹⁰ consideram a raça do animal como um fator importante na variação da composição dos ácidos graxos do leite.

Esta variação também foi estudada por SANTOS⁶, em 1971, em trabalho efetuado na Universidade de Davis, Califórnia.

O presente trabalho surgiu da necessidade de se identificar a gordura do leite de vaca através dos ácidos graxos pois, em 1977, em São Paulo, houve suspeita de substituição da gordura natural por gorduras estranhas (gorduras vegetais hidrogenadas ou não, sebo, e outras) no próprio leite "in natura".

Efetuada um grande número de análises de leite do "pool" comercializado em São Paulo (cerca de 70 amostras), passou-se a pesquisar o perfil dos ácidos graxos dos leites provenientes de diversas raças e, em especial, o da raça Canchim. Dirigimos também nossa pesquisa para verificar possíveis diferenças na composição dos ácidos graxos da gordura dos leites de algumas raças bovinas.

MATERIAL E MÉTODOS

Trabalhamos com o leite de 55 vacas provenientes de 4 raças:

Canchim *	— 21 amostras
Gir	— 13 amostras
Holstein (holandesa)	— 11 amostras
Jersey	— 10 amostras

As amostras de leite, imediatamente após a ordenha, foram congeladas e mantidas nessas condições até chegarem ao laboratório.

Após descongelamento, o leite foi aquecido a 60°C durante 60 minutos para inativar as lipases.

A extração da gordura foi feita da seguinte maneira: Em um funil de separação adicione 100 ml da amostra, 100 ml de álcool metílico e 100 ml de clorofórmio, agite vigorosamente por um minuto. Centrifugue durante 10 minutos a 2000 rotações por minuto. Separe a camada inferior de clorofórmio contendo os lipídios. Evapore o solvente em banho-maria.

A análise por cromatografia em fase gasosa dos ácidos graxos de óleos e gorduras exige previamente a transformação dos glicerídeos em derivados com ponto de ebulição mais baixo, que no caso foram os ésteres metílicos.

Para o processo de metilação usamos a técnica de transesterificação, de acordo com BADOLATO & ALMEIDA¹, que consiste no seguinte: Coloque 25 mg de amostra em um frasco de transesterificação. Adicione 15 ml de solução de H₂SO₄ a 2% em metanol, 3 ml de hexano e algumas pérolas de vidro. Aqueça em refluxo por uma hora. Esfrie e adicione cerca de 40 ml de solução saturada de NaCl; agite por 1 minuto. Adicione mais solução de NaCl até o solvente atingir a parte afunilada do frasco. Todos os ésteres metílicos formados se encontram dissolvidos no hexano.

Para análise dos ésteres foi usado um cromatógrafo a gás, Varian, modelo 1400, com detector de ionização de chama.

Foi usada uma coluna de aço inox de 6 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro interno, tendo como fase estacionária DEGS (Succinato de dietileno glicol) a 10% em Cromosorb W, como suporte sólido.

Parâmetros observados

Temperatura do injetor: 220°C

Temperatura do detector: 220°C

Temperatura da coluna: programada de 50 a 190°C, sendo $\beta = 8^\circ\text{C}/\text{min}$

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo: 20 ml/min

Sensibilidade: variável (16.10⁻¹⁰ e 8.10⁻¹⁰)

Velocidade do papel: 0,5 cm/min

* Canchim⁹ é uma nova raça desenvolvida no Brasil por cruzamento do gado charolês com zebu (Indubrasil).

Identificação dos ácidos graxos

A identificação dos principais picos foi efetuada por comparação com os tempos de retenção de padrões.

Outros picos foram identificados por comparação com uma mistura de padrões efetuadas por SMITH⁸, da Universidade de Davis, California.

Outros ácidos, presentes em quantidades mínimas, foram identificados comparando os cromatogramas por nós obtidos com cromatogramas publicados pelo mesmo autor.

A identificação dos picos foi também confirmada pelo tempo de retenção relativo ao ácido mirístico.

Para determinação da porcentagem relativa dos diferentes ácidos graxos foi empregado o processo de normalização interna.

Neste processo é admitido que a soma das áreas dos picos dos ácidos graxos é proporcional à massa dos componentes e corresponde a 100% da mistura.

$$\text{Fórmula: } \frac{a}{b} \times 100 = \text{éster metílico X, por cento}$$

a = área do pico do éster X

b = Σ das áreas dos picos

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as amostras de leite analisadas foram identificados os seguintes ácidos: butírico, capríco, caprílico, capríco, capricolêico, láurico, laurólêico, C₁₂, mirístico, miristolêico, C₁₆, palmítico, palmitolêico C₁₇, C₁₈ iso, esteárico, olêico, linolêico, araquídico e linolênico. Foram também detectados nos cromatogramas mais 2 picos não identificados (fig. 1, 2 e 3).

Os resultados obtidos estão reunidos nas tabelas 1, 2, 3 e 4.

Foram experimentados vários métodos de extração de lipídios, entre os quais o processo indicado nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁷. Entretanto, o que deu melho-

res resultados foi o recomendado por Conacher*, já descrito na parte de "Material e Métodos".

O processo de metilação por nós empregado solucionou o problema da perda dos ésteres metílicos mais voláteis. Esta perda, citada por vários autores, consistia em uma das dificuldades e causa de erro, na determinação dos ácidos graxos da gordura de leite.

As condições de operação do cromatógrafo, por nós estabelecidas, permitiram, além de uma boa separação dos componentes, a possibilidade da determinação quantitativa, em um único cromatograma.

CONCLUSÃO

A cromatografia em fase gasosa revelou a presença dos mesmos ácidos graxos em todas as amostras analisadas e também de acordo com os encontrados na literatura consultada.

Nas quatro raças estudadas os ácidos graxos presentes em maior porcentagem foram: mirístico, palmítico, esteárico e olêico.

Os resultados obtidos demonstram que as amostras de leite proveniente da raça holandesa apresentaram maior porcentagem de ácido olêico em relação às demais amostras das outras raças estudadas. Também foi verificado que as amostras desta raça apresentaram os teores mínimos, em porcentagem, de ácidos mirístico e palmítico.

Em relação às amostras de leite proveniente da raça Gir observamos que os ácidos mirístico e palmítico apresentaram os maiores valores percentuais em relação aos valores obtidos nas amostras das outras raças, enquanto que o ácido esteárico apresentou o menor teor.

Salientamos, ainda, serem pela primeira vez publicados os dados referentes à raça Canchim. Em vista dos resultados obtidos, concluímos que não há diferença apreciável, quanto à composição dos ácidos graxos, entre as amostras do leite desta raça em relação às amostras das outras raças estudadas.

* CONACHER, H. B. S., Health Protection Branch Food Research Division. Ottawa, Canadá. Comunicação pessoal.

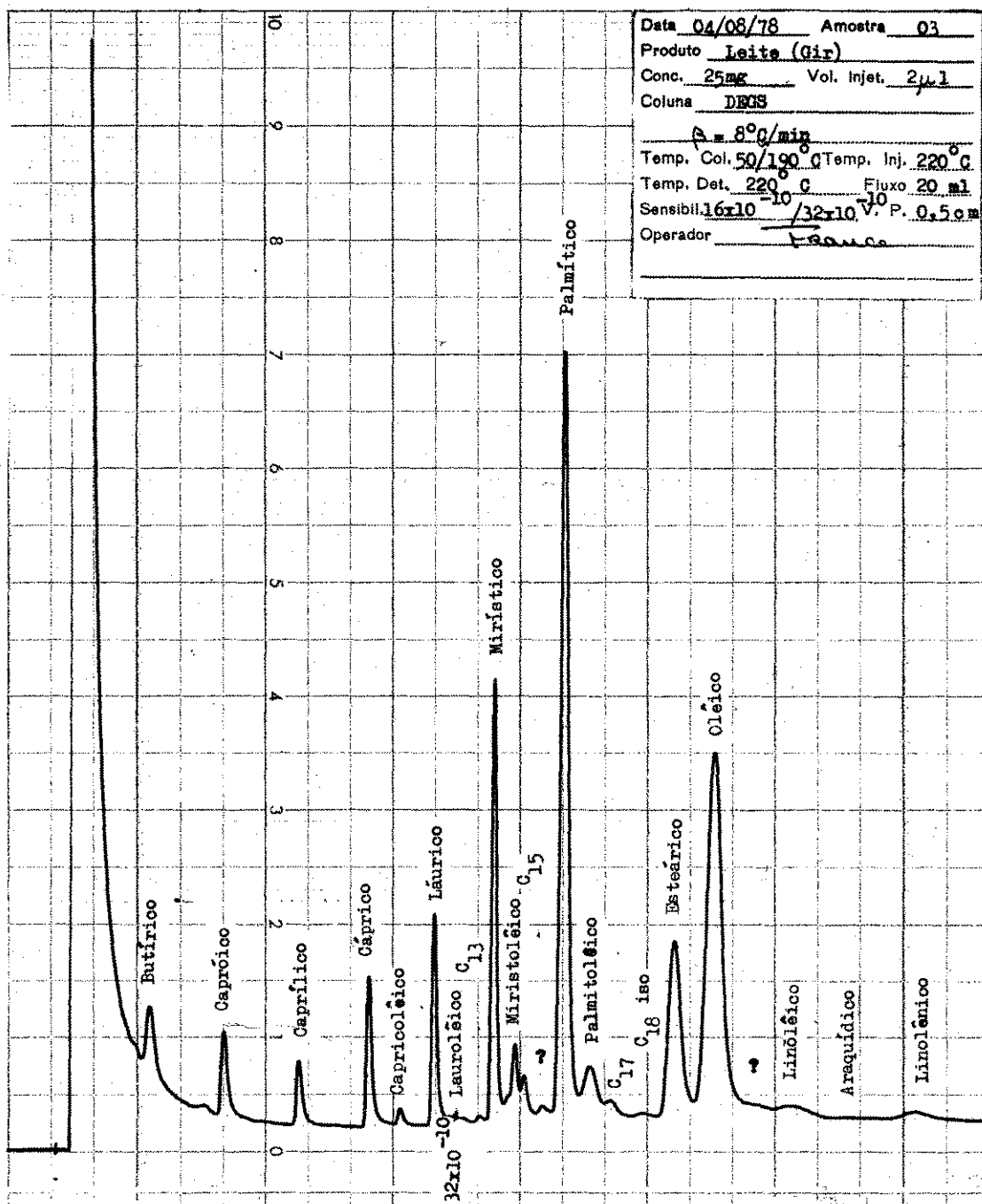


Fig. 1 — Cromatograma de ácidos graxos de leite de vaca da raça Gir.

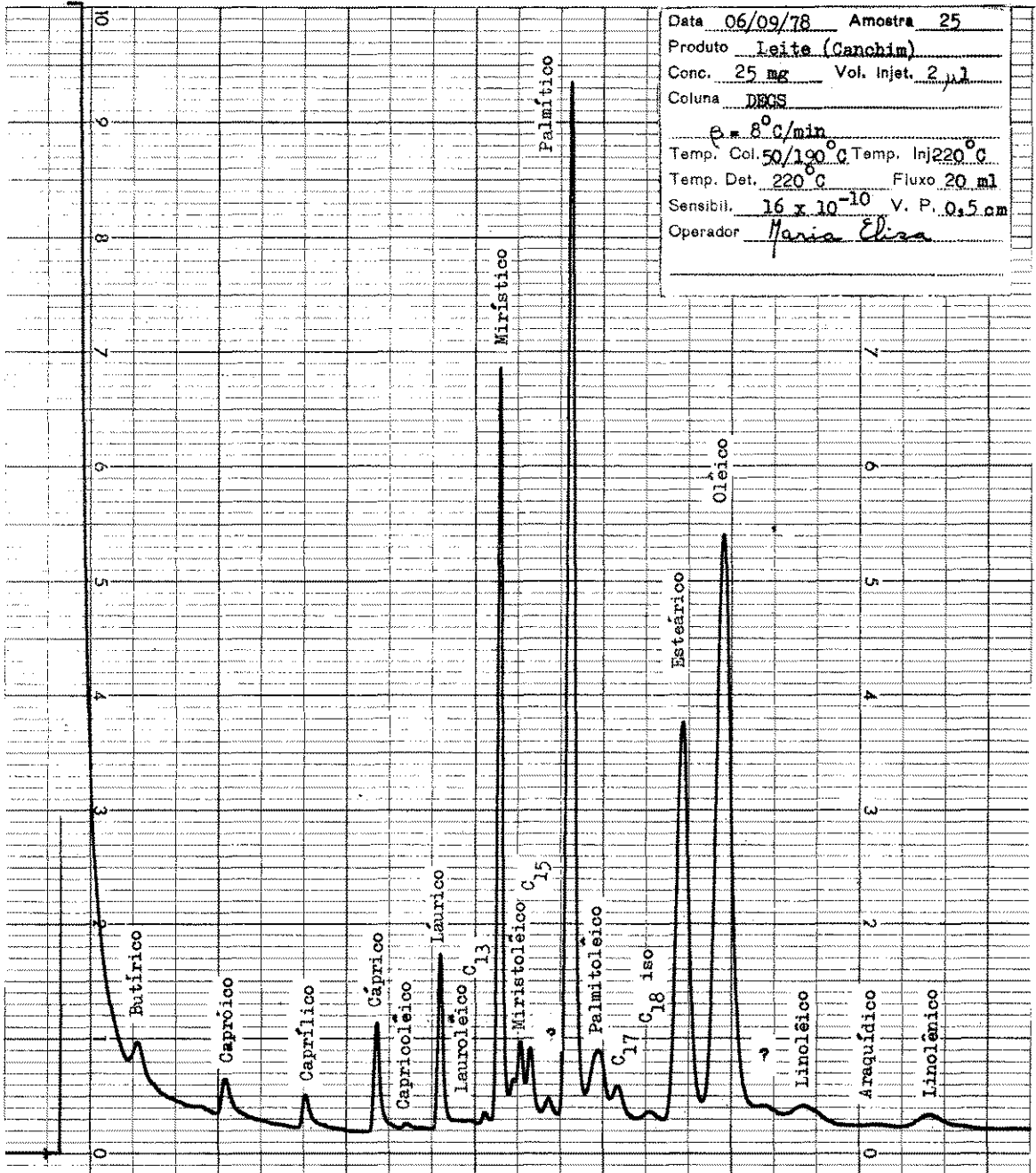


Fig. 2 — Cromatograma de ácidos graxos de leite de vaca da raça Canchim.

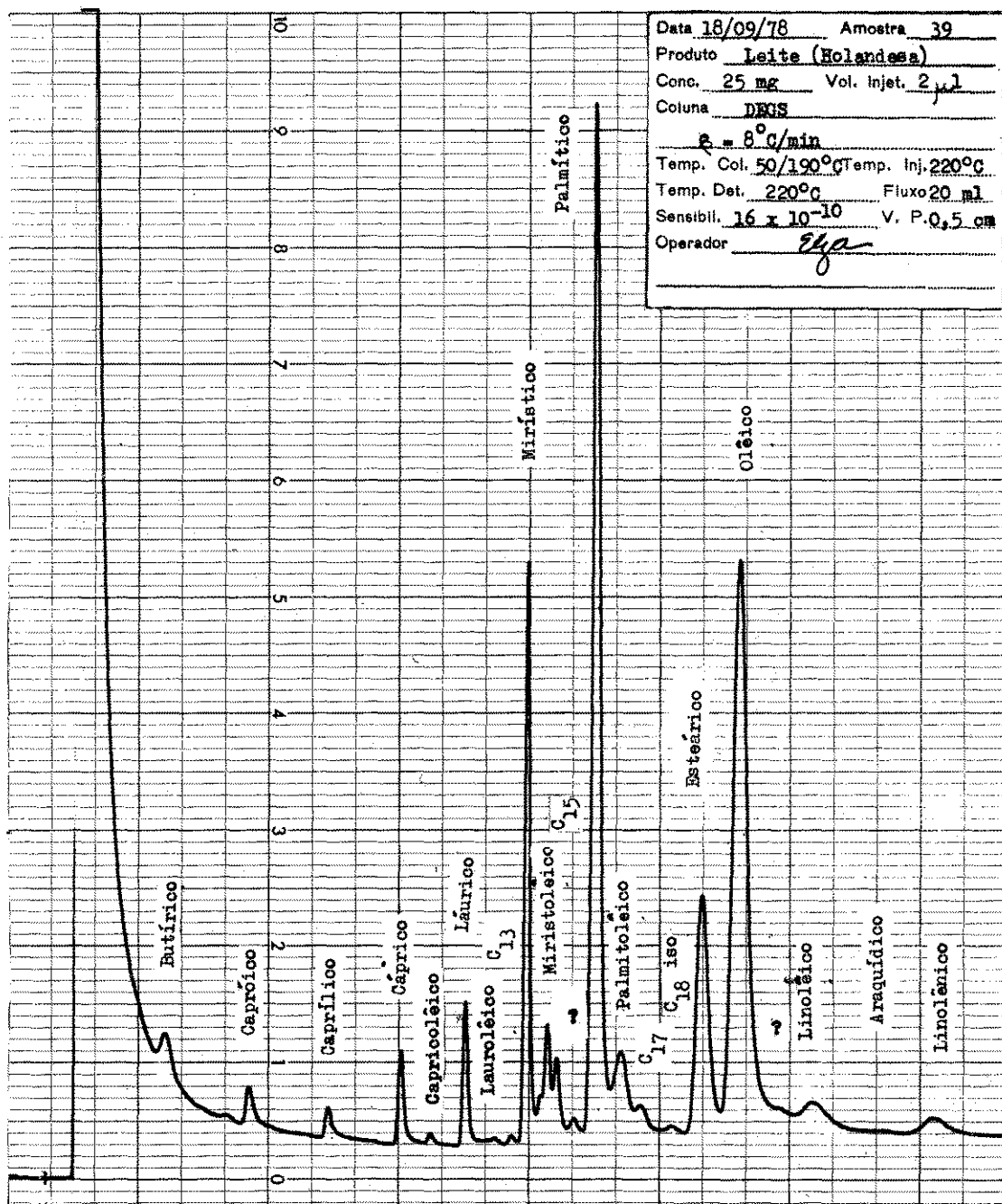


Fig. 3 — Cromatograma de ácidos graxos de leite de vaca da raça Holstein (holandesa).

TABELA 1
Composição dos ácidos graxos da gordura de leite de vaca
Raça Canchim *

Ácidos graxos	Valor %			Desvio padrão
	mínimo	máximo	médio	
Butírico	0,4	2,1	1,4	0,39
Capróico	0,6	3,0	1,3	0,51
Caprílico	0,5	1,4	0,9	0,20
Cáprico	1,3	4,1	2,5	0,74
Capricolêico	tr.	tr.	—	—
Láurico	1,9	4,9	3,3	0,71
Lauroléico	tr. **	tr.	—	—
C ₁₃	tr.	tr.	—	—
Mirístico	6,3	16,7	12,1	2,57
Maristolêico	0,5	1,7	1,1	0,37
C ₁₅	0,5	1,7	1,1	0,37
Não identificado	tr.	tr.	—	—
Palmitico	25,5	41,6	30,9	4,30
Palmitoléico	1,2	3,9	2,1	0,68
C ₁₇	0,3	1,0	0,6	0,19
C ₁₈ (iso)	tr.	tr.	—	—
Esteárico	8,9	19,6	13,6	2,96
Oléico	18,5	38,8	27,2	4,97
Não identificado	tr.	tr.	—	—
Linoléico	0,3	2,1	1,2	0,52
Araquídico	tr.	tr.	—	—
Linolênico	0,3	2,2	1,1	0,43

* N.º de amostras = 21

** tr. = traços

TABELA 2
Composição dos ácidos graxos da gordura de leite de vaca
Raça Gir *

Ácidos graxos	Valor %			Desvio padrão
	mínimo	máximo	médio	
Butírico	0,4	2,2	1,1	0,60
Capróico	0,9	2,8	1,7	0,54
Caprílico	0,7	4,7	1,6	1,03
Cáprico	1,4	4,8	3,1	0,94
Capricolêico	tr.	tr.	—	—
Láurico	2,6	6,0	4,2	0,93
Lauroléico	tr.	tr.	—	—
C ₁₃	tr.	tr.	—	—
Mirístico	10,8	20,8	14,0	2,51
Maristolêico	0,9	3,0	1,8	0,56
C ₁₅	0,4	1,2	0,9	0,22
Não identificado	tr.	tr.	—	—
Palmitico	28,0	39,8	33,8	3,51
Palmitoléico	1,1	3,2	2,3	0,48
C ₁₇	0,3	0,6	0,4	0,11
C ₁₈ (iso)	tr.	tr.	—	—
Esteárico	4,5	15,2	9,5	2,88
Oléico	18,3	31,3	24,0	3,65
Não identificado	tr.	tr.	—	—
Linoléico	0,3	1,2	0,8	0,31
Araquídico	tr.	tr.	—	—
Linolênico	0,4	1,2	0,9	0,29

* N.º de amostras = 13

TABELA 3
Composição dos ácidos graxos da gordura de leite de vaca
Raça Holstein (holandesa) *

Ácidos graxos	Valor %			Desvio padrão
	mínimo	máximo	médio	
Butírico	0,7	2,6	1,6	0,52
Capróico	0,7	3,2	1,8	0,70
Caprílico	0,2	2,9	1,2	0,69
Cáprico	1,2	5,2	2,8	1,13
Capricolêico	tr.	tr.	—	—
Láurico	2,0	5,4	3,4	1,05
Lourolêico	tr.	tr.	—	—
C ₁₃	tr.	tr.	—	—
Mirístico	6,3	16,2	11,5	2,96
Maristolêico	0,8	2,0	1,3	0,42
C ₁₅	0,8	1,5	1,1	0,22
Não identificado	tr.	tr.	—	—
Palmitico	23,6	31,8	28,2	2,45
Palmitolêico	1,6	2,2	1,9	0,17
C ₁₇	0,4	0,6	0,5	0,07
C ₁₈ (iso)	tr.	tr.	—	—
Estearico	9,7	18,0	13,6	2,33
Olêico	21,7	36,8	29,0	4,39
Não identificado	tr.	tr.	—	—
Linolêico	1,0	2,0	1,5	0,30
Araquídico	tr.	tr.	—	—
Linolênico	0,7	1,6	1,1	0,28

* N.º de amostras = 11

TABELA 4
Composição dos ácidos graxos da gordura de leite de vaca
Raça Jersey *

Ácidos graxos	Valor %			Desvio padrão
	mínimo	máximo	médio	
Butírico	0,9	2,5	1,7	0,59
Capróico	1,5	3,4	2,4	0,55
Caprílico	1,2	2,4	1,8	0,36
Cáprico	2,6	5,1	3,8	0,82
Capricolêico	tr.	tr.	—	—
Láurico	3,7	6,1	4,6	0,86
Lauroleico	tr.	tr.	—	—
C ₁₃	tr.	tr.	—	—
Mirístico	12,1	16,4	14,0	1,37
Maristolêico	0,7	1,5	1,2	0,28
C ₁₅	1,0	1,5	1,1	0,16
Não identificado	tr.	tr.	—	—
Palmitico	22,6	35,7	30,4	4,31
Palmitolêico	1,5	2,3	1,9	0,25
C ₁₇	0,4	0,8	0,6	0,12
C ₁₈ (iso)	tr.	tr.	—	—
Estearico	6,8	19,2	12,4	3,69
Olêico	16,7	27,9	22,6	3,54
Não identificado	tr.	tr.	—	—
Linolêico	0,8	1,9	1,2	0,32
Araquídico	tr.	tr.	—	—
Linolênico	0,4	1,1	0,8	0,22

* N.º de amostras = 10

RIALAG/483

BADOLATO, E. S. G.; DURANTE, F. & ALMEIDA, M. E. W. — Fatty acids composition of milk fat in Jersey, Gir, Holstein and Canchim's breeds. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(2):127-135, 1979.

SUMMARY: Gas-liquid chromatography was used for the identification and estimation of the fatty acids in milk samples from Jersey, Gir, Holstein and Canchim cows. Canchim is a new breed obtained through crossing Charolais and Hindubrasil cattle. Butiric, caproic, caprilic, capric, linoleic, linolenic and arachidic acids were identified. Some other peaks, probably due to capricoleic, lauroleic, C₁₃, C₁₅ and miristoleic acids were also observed. Miristic, palmitic, stearic and oleic acids were the fatty acids found in higher amount in the four studied breeds. Canchim breed did not show any appreciable difference in fatty acid composition of milk fat in comparison to the other studied breeds. It is the first time that the fatty acids in milk samples from Canchim breed are described.

DESCRIPTORS: milk, determination of fatty acids by gas-liquid chromatography; fatty acids in milk, determination by gas-liquid chromatography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BADOLATO, E. S. G. & ALMEIDA, M. E. W. — Pesquisa por cromatografia em fase gasosa da adulteração de chocolates. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37: 47-56, 1977.
2. GANDER, G. W.; JENSEN, R. G. & SAMPUGNA, J. — Analysis of milk fatty acids by gas-liquid chromatography. *J. Dairy Sci.*, 45: 323-8, 1962.
3. HANSEN, R. P. & SHORLAND, F. B. — Seasonal variations in fatty acid composition of New Zealand butterfat. *Biochem. J.*, 52: 207-16, 1952.
4. JAMES, A. T. & MARTIN, A. J. P. — Gas-liquid chromatography: the separation and identification of the methyl esters of saturated and unsaturated acids from formic acid to *n*-octadecanoic acid. *Biochem. J.*, 63: 144-52, 1956.
5. JENSEN, R. G.; GANDER, G. W. & SAMPUGNA, J. — Fatty acid composition of the lipids from pooled raw milk. *J. Dairy Sci.*, 45: 329-31, 1962.
6. SANTOS, E. C. — Composição em ácidos graxos da gordura de leite nas raças Holstein, Guernsey e Jersey. *Arch. Esc. Vet.*, Minas Gerais, 23: 253-62, 1971.
7. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 2a ed. São Paulo, Melhoramentos, 1976.
8. SMITH, L. M. — Quantitative fatty acid analysis of milk fat by gas-liquid chromatography. *J. Dairy Sci.*, 44: 607-22, 1961.
9. VIANNA, A. T.; GOMES, F. P. & SANTIAGO, M., ed. — *Formação do gado Canchim pelo cruzamento charolês-zebu*. 2a ed. São Paulo, Nobel, 1978.
10. WEBB, B. H. & JOHNSON, A. H., ed. — *Fundamentals of dairy chemistry*. Westport, Conn., AVI, 1965.

Recebido para publicação em 1.º de fevereiro de 1979.

