



Relação entre o teor de CLA *trans*-10, *cis*-12 e índices da atividade da enzima Estearoil CoA-Dessaturase (Δ -9 Dessaturase) no leite de cabras recebendo níveis crescentes de CLA

Diego Fernandes¹, Michel Baldin¹, Ricardo Dresch¹, Mariana Macedo de Almeida², Marco Antonio Sundfeld da Gama³, Dimas Estrasulas de Oliveira⁴

¹ Mestrando em Ciência Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil.

² Bolsista de Iniciação Científica da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil.

³ Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil.

⁴ Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC. E-mail: deolivei2@terra.com.br

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre a concentração do isômero *trans*-10, *cis*-12 do ácido linoleico conjugado (CLA) no leite de cabras sobre a atividade da enzima Δ -9 Dessaturase em diferentes doses de CLA. Foram utilizados 8 animais da raça Toggenburg, divididos em dois quadrados latinos, um com primíparas e outro por múltiparas. Os animais receberam uma porção diária de 45 g de suplemento lipídico, onde o CLA substituiu sais de cálcio de óleo de soja. O suplemento de CLA continha 29% do CLA *trans*-10, *cis*-12, assim, a inclusão de CLA correspondeu as seguintes doses do isômero *trans*-10, *cis*-12: 0; 4,35; 8,7; 13,05 g/d, para os respectivos tratamentos Controle, CLA15, CLA30 e CLA 45. Observou-se redução em todos os índices de dessaturase a medida que houve aumento da inclusão de CLA. Em especial a redução na relação dos ácidos graxos miristoleico e mirístico, o principal parâmetro da atividade da enzima.

Palavras-chave: ácidos graxos, dessaturação, enzima lipogênica, toggenburg

Relationship between *trans*-10, *cis*-12 CLA and indexes of Stearoil CoA-Desaturase (Δ -9 Desaturase) enzyme activity in milk from goats fed increasing levels of CLA

Abstract: The purpose of this study was to evaluate the relationship between the concentration of conjugated linoleic acid (CLA) in milk of goats on parameters of the enzyme Δ -9 Desaturase in different doses of CLA. Eight Toggenburg goats were divided into two Latin Squares 4X4 according to the number of lactations, one of this was formed by primiparous and another was formed by multiparous. The animals received a daily ration of 45 grams of fat supplement, where the CLA replaced the calcium salts of soybean oil. The CLA supplement contained 29% de CLA *trans*-10, *cis*-12, thus, the inclusion of the following doses of CLA isomer *trans*-10, *cis*-12: 0, 4.35, 8.7, 13.05 g /d, respectively for control, CLA15, CLA30 and 45 CLA. Reduction was observed in all desaturase index as the increased inclusion of CLA. In particular the reduction in the ratio of myristic: miristoleico fatty acids, the primary parameter of enzyme activity.

Keywords: desaturarion, fatty acids, lopogenic enzyme, toggenburg

Introdução

A regulação nutricional de genes que codificam as enzimas lipogênicas na glândula mamária de ruminantes tem sido investigada em estudos *in vivo* e *in vitro*, onde tem-se observado que alguns ácidos graxos *trans* exercem um papel central na regulação da síntese de gordura do leite (Bernard et al., 2008). O CLA *trans*-10, *cis*-12 foi reconhecido como o principal isômero responsável pela depressão da gordura do leite, através da inibição da expressão de genes que codificam enzimas lipogênicas na glândula mamária (Baumgard et al., 2002). Os índices de dessaturase, calculados pela relação entre produtos e substratos da enzima Δ -9 Dessaturase, têm sido usados como indicadores da atividade desta enzima lipogênica na glândula mamária de ruminantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a associação entre os teores de CLA *trans*-10 *cis*-12 e índices de dessaturase na gordura do leite de cabras alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de CLA.



Material e Métodos

Oito animais da raça Toggenburg, (120 a 150 dias de lactação e pesando 46,7± 4,8 kg), foram divididos em dois quadrados latinos 4x4, (primíparas; múltiparas). Os tratamentos foram: 1) Controle: 45 g/dia de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); 2) CLA15: 30 g/dia de SCOS + 15 g/dia de CLA; c) CLA30: 15 g/dia de SCOS + 30 g/dia de CLA e 4) CLA45: 45 g/dia de CLA. O CLA utilizado continha 29% de *trans*-10, *cis*-12 e 29% de *cis*-9, *trans*-11, na forma de ésteres metílicos. Ambos os suplementos lipídicos foram misturados com um concentrado (1 kg/cabra/dia) e fornecidos duas vezes ao dia, após as ordenhas da manhã e da tarde, de forma que 0; 4,35; 8,7 e 13,05 g de *trans*-10, *cis*-12 foram ingeridos diariamente pelos animais recebendo os tratamentos Controle, CLA15, CLA30 e CLA45, respectivamente. Os animais foram alocados em baias individuais e receberam silagem de milho fornecida *ad libitum* após a completa ingestão do concentrado.

Cada período experimental durou 12 dias, com seis dias de intervalo. Amostras de leite foram coletadas no último dia de cada período para a determinação do perfil de ácidos graxos. A extração da gordura do leite foi realizada como descrito por Hara & Radim (1978), e a metilação dos ácidos graxos de acordo com Christie (1982). A determinação do perfil dos ácidos graxos bem como as condições de análise foram as mesmas descritas por Cruz-Hernandez et al. (2007).

As análises estatísticas foram realizadas por meio do pacote estatístico SAS (SAS Instit., 2002), utilizando os procedimentos REG e NLIN usando os modelos linear ($Y = \beta_0 + \beta_1 * X + \epsilon$), onde Y é o índice de dessaturase, X é a quantidade de *trans*-10, *cis*-12 secretada no leite em função das doses do isômero e ϵ é o termo do erro da regressão e exponencial ($Y = \beta_0 * e^{-\beta_1 X} + c + \epsilon$), onde Y é o índice de dessaturase, X é a quantidade de *trans*-10, *cis*-12 secretada no leite em função das doses do isômero e ϵ é o termo do erro da regressão. Os coeficientes β_0 e β_1 representam a escala e a taxa de declínio exponencial, respectivamente, e o c é a constante que denota a menor assíntota. Para o modelo não linear, a estimativa dos parâmetros foi obtida usando o algoritmo não-linear de Gauss-Newton. O quadrado médio do erro, a estrutura residual, os limites inferiores e superiores do intervalo de confiança (95%) da assíntota e os valores de correlação foram usados para determinar a adequacidade do modelo.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 encontram-se as concentrações dos substratos e produtos da enzima Δ -9 Dessaturase, bem como os índices de dessaturase correspondentes. Observou-se uma redução em todos os índices de dessaturase à medida que a dose de CLA aumentou. Tem sido proposto que a atividade da enzima *in vivo* é melhor estimada através da relação miristoleico (C14:1 *cis*-9): mirístico (C14:0) na gordura do leite. Isso ocorre porque o ácido miristoleico presente no leite é oriundo exclusivamente da dessaturação do ácido mirístico, que por sua vez é quase que exclusivamente oriundo da síntese “*de novo*” na glândula mamária, tendo em vista que este ácido graxo encontra-se praticamente ausente nos alimentos comumente usados na dieta ruminantes.

Tabela 1 Perfil de ácidos graxos (g/100 g de ácidos graxos totais) da gordura do leite de cabras recebendo dietas suplementadas com doses crescentes de CLA.

Ácido Graxo	Controle	CLA15	CLA30	CLA45	Valor de P
C14:0	8,590	8,699	8,585	8,674	0,99
C14:1 <i>cis</i> -9	0,093	0,075	0,053	0,043	0,0001
C16:0	24,600	24,220	23,200	21,620	0,0001
C16:1 <i>cis</i> -9	0,488	0,429	0,386	0,329	0,0001
C18:0	12,830	15,395	17,521	19,073	0,0001
C18:1 <i>cis</i> -9	18,698	17,599	16,593	16,401	0,76
C18:1 <i>trans</i> -11	1,273	1,526	2,096	2,209	0,0002
CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0,534	0,565	0,711	0,821	0,0001
CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0,034	0,139	0,291	0,470	0,0001
14:1 <i>cis</i> -9/14:0+14:1 <i>cis</i> -9	0,011	0,008	0,006	0,005	0,0001
16:1 <i>cis</i> -9/16:0+16:1 <i>cis</i> -9	0,021	0,018	0,017	0,014	0,003
18:1 <i>cis</i> -9/18:0+18:1 <i>cis</i> -9	0,591	0,534	0,488	0,462	0,0001
CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11/C18:1 <i>trans</i> -11+ CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0,300	0,272	0,256	0,274	0,05



Na Figura 1 são mostradas as regressões linear e exponencial entre o teor de *trans*-10, *cis*-12 a relação C14:1 *cis*-9/C14:0 na gordura do leite. Utilizando-se o modelo não linear, a menor assíntota estimada “c” (0,00326) foi menor do que os valores obtidos (0,0037 a 0,0146), sugerindo que a maior dose de *trans*-10, *cis*-12 fornecida (13,05 g) não foi suficiente para promover máxima inibição da enzima Δ -9 Dessaturase na glândula mamária.

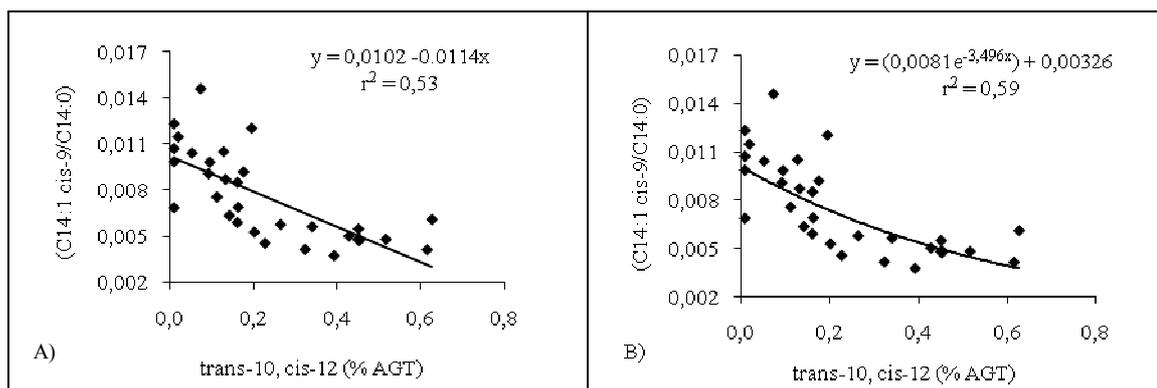


Figura 1. Regressão linear (A) e exponencial (B) entre o teor de CLA *trans*-10, *cis*-12 (% dos ácidos graxos totais - AGT) no leite e a relação C14:1 *cis*-9/C14:0 na gordura do leite (n=32).

Conclusões

O aumento das doses de CLA reduziu todos os índices de dessaturação, em especial, a relação miristoleico:mirístico o principal indicador da atividade da enzima Δ -9 Dessaturase.

Agradecimentos

Ao Dr. José Henrique Bruschi (in memoriam) que gentilmente cedeu as instalações e animais para que esse experimento fosse conduzido.

Literatura citada

- BERNARD, L.; LEROUX, C.; CHILLIARD, Y. Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. **Adv. Exp. Med. Biol.**, 606, p. 67-108, 2008.
- BAUMGARD, L. H.; MATITASHVIL, E.; CORL, B. A.; DWYER, D. A.; BAUMAN, D. E. *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2155-2163, 2002.
- CHRISTIE, W.W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v.23, p.1072, 1982.
- CRUZ-HERNANDEZ, C., KRAMER, J.K.G., KENNELLY, J.J., GLIMM, D.R., SORENSEN, B. M., OKINE, E.K., GOONEWARDENE, L.A., WESELAKE, R.J.2007. Evaluating the conjugated linoleic acid and *trans* 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3786-3801, 2007
- HARA, A.; RADIN, N. S.; Lipid extraction of tissues with low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, v.90, p.420-426, 1978.
- SAS Institute Inc. **SAS/STAT: User's Guide**. Version 9.0. ed Cary, NC, 2002.