

ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO: UMA BREVE REVISÃO

Monica Beatriz Preuss¹
Ana Lúcia Becker Rohlfes²
Nádia de Monte Baccar³
Liliane Marquardt⁴
Mari Silvia R. de Oliveira⁵
Rosana de C. de S. Schneider⁶

RESUMO

O ácido linoleico conjugado (CLA) é um ácido graxo poli-insaturado natural, encontrado principalmente na gordura do leite e na carne de animais ruminantes. Seus isômeros geométricos e de posição *c9t11* e *t10c12* vêm despertando interesse, uma vez que o primeiro é considerado um agente anticarcinogênico natural e o segundo, um repartidor de nutrientes efetivo. Pesquisas relacionam o CLA a outros efeitos positivos à saúde como a redução de aterosclerose, prevenção e tratamento do diabetes *mellitus*, estimulação do sistema imunológico, redução da pressão arterial e da gordura corporal com aumento da massa magra. Apresenta propriedade hipocolesteronica além de atuar como poderoso antioxidante. Assim, este trabalho de revisão tem por objetivo o enfoque na produção de CLA, seus benefícios à saúde, bem como os métodos analíticos de quantificação do mesmo em alimentos.

Palavras-chave: Ácido linoleico conjugado. Benefícios à saúde. Quantificação em alimentos.

ABSTRACT

Conjugated linoleic acid (CLA) is a natural polyunsaturated fatty acid, found mainly in milk fat and meat of ruminant animals. Their geometric isomers and position isomers, *c9t11* and *t10c12*, have attracted interest since the first is considered a natural anticancer agent and the second, effective splitter nutrients. Searches related to CLA other positive effects on health such as reducing atherosclerosis, prevention and treatment of diabetes *mellitus*, stimulation of the immune system, lowering blood pressure and body fat with lean mass increase. It displays property hipocolesteronica besides acting as a powerful antioxidant. Therefore, this review paper aims to focus on the production of CLA, its benefits to health, as well as analytical methods for quantifying in food.

Keywords: Conjugated linoleic acid. Health benefits. Quantification food.

¹ Acadêmica do Curso de Química Industrial – Universidade de Santa Cruz do Sul. <monicapreuss@yahoo.com.br>

² Doutora em Química - Departamento de Química e Física – Universidade de Santa Cruz do Sul. <albecker@unisc.br>

³ Mestre em Desenvolvimento Regional – Departamento de Química e Física – Universidade de Santa Cruz do Sul. <nadia@unisc.br>

⁴ Mestre em Engenharia de Produção - Departamento de Engenharia, Arquitetura e Ciências Agrárias – Universidade de Santa Cruz do Sul. <liliane@unisc.br>

⁵ Mestre em Tecnologia dos Alimentos - Departamento de Química e Física – Universidade de Santa Cruz do Sul. <mari@unisc.br>

⁶ Doutora em Química - Departamento de Química e Física – Universidade de Santa Cruz do Sul. <rosana@unisc.br>

1 INTRODUÇÃO

O aumento da ingestão de alimentos calóricos e com elevado conteúdo de gordura, associado à falta de atividade física, são características comuns do estilo de vida ocidental, o que pode acarretar o desenvolvimento de doenças, tais como aterosclerose, obesidade e hipertensão, entre outras (FERNANDES *et al.*, 2011).

Diante disso, nos últimos anos, houve aumento do interesse dos consumidores por alimentos que, além de apresentarem características nutricionais desejáveis, possam fornecer também substâncias benéficas à saúde humana (OLIVEIRA *et al.*, 2008; MOURÃO *et al.*, 2005). Estes alimentos são denominados de funcionais, podendo ser citados os ácidos graxos como o ácido linoleico conjugado (CLA, do inglês *conjugated linoleic acid*).

O ácido linoleico conjugado (CLA) é um ácido graxo poli-insaturado natural, encontrado nos produtos da alimentação diária, principalmente em produtos lácteos e carnes bovinas. Seus isômeros posicionais e geométricos, c9t11 e t10c12, vêm despertando cada vez mais o interesse dos profissionais da saúde humana, uma vez que o primeiro é considerado um poderoso agente anticarcinogênico natural e o segundo, um agente repartidor de nutrientes muito efetivo (FUENTE; LUNA; JUÁREZ, 2006; POIRIER *et al.*, 2006).

Muitas pesquisas, utilizando diferentes modelos animais, relacionam o CLA a vários efeitos positivos que podem favorecer a saúde humana, incluindo a redução de aterosclerose, prevenção e tratamento do diabetes *mellitus*, efeito anticarcinogênico, estimulante do sistema imunológico, redução da pressão arterial e efeitos na composição do corpo, especialmente na redução da gordura corporal e no aumento da massa magra (HAUGEN; VIKSE; ALEXANDER, 2003; KRITCHEVSKY, 2000; POIRIER *et al.*, 2006).

Dessa forma, considerando-se a relevância do tema, o presente trabalho objetiva investigar na literatura os principais aspectos relacionados ao CLA, como produção, benefícios e métodos analíticos para sua quantificação.

2 ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

A gordura *trans* presente no leite e seus derivados, denominada de ácido vacênico, é a precursora de ácidos graxos específicos de ruminantes, como o ácido linoleico conjugado (POIRIER *et al.*, 2006; SIMIONATO, 2008).

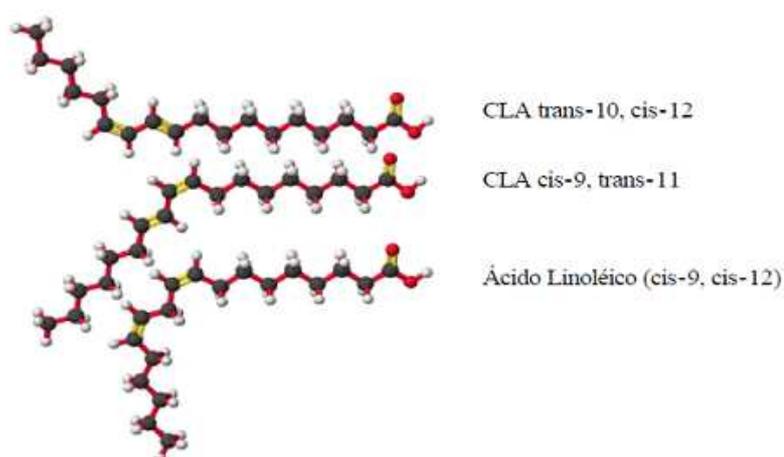
O CLA é um ácido graxo poli-insaturado natural e representa uma mistura de isômeros posicionais e geométricos com duplas ligações conjugadas do ácido octadecadienóico – C18:2 – (GOUVÊA *et al.*, 2012; MOURÃO *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*,

2009), localizadas nas posições C8 e C10; C9 e C11; C10 e C12 ou C11 e C13, originando, assim, a designação de dieno conjugado (FUNCK; BARRERA-ARELLANO; BLOCK, 2006; PEREIRA *et al.*, 2011). Esse ácido graxo foi isolado pela primeira vez da carne de vaca grelhada por cientistas da Universidade de Wisconsin em Madison (USA), no final da década de 70 (OU *et al.*, 2007; LIMA JÚNIOR *et al.*, 2011).

O CLA é encontrado em pequenas quantidades em diversos alimentos e estima-se a existência de 56 diferentes isômeros geométricos e de posição do CLA (BOTELHO *et al.*, 2005), com as duplas ligações podendo ser do tipo *cis, cis*; *cis, trans*; *trans, trans*; *e, trans, cis* (PEREIRA *et al.*, 2011). Embora existam diversos isômeros de CLA, o C18:2 *c9t11* e o C18:2 *t10c12* (Figura 1) são os únicos isômeros biologicamente ativos (BITENCOURT, 2011; FUENTE; LUNA; JUÁREZ, 2006).

O isômero C18:2 *c9t11* apresenta propriedades anticarcinogênicas, agindo principalmente como redutor de incidência do câncer de mama, enquanto o isômero C18:2 *t10c12* tem sido apontado como um potente inibidor da síntese de gordura no leite e também responsável pela redistribuição da gordura do músculo, sendo capaz de diminuir a massa corporal gorda e aumentar a massa corporal magra (OU *et al.*, 2007).

Figura 1 - Estrutura dos isômeros C18:2 *t10c12* CLA e C18:2 *c9t11*CLA e do ácido linoléico. Adaptado de Hayashi (2003)



O CLA é encontrado em concentrações mais elevadas na gordura oriunda de ruminantes, como, por exemplo, carne de gado e leite e seus derivados (MOURÃO *et al.*, 2005), mas também pode ser encontrado em menores quantidades na carne suína, de aves e óleos vegetais (FUKE *et al.*, 2012; HUR; PARK; JOO, 2007).

Apesar de mais de dez isômeros já terem sido identificados como constituintes naturais dos alimentos, o isômero C18:2 *c9t11* é a forma predominante de CLA nos alimentos

naturais, sendo encontrado em concentração mais elevada, uma vez que percentuais de 75 a 90% do CLA total, em leite e produtos derivados do leite de ruminantes, corresponde ao isômero C18:2 *c9t11* (GOUVÊA *et al.*, 2012), enquanto o isômero C18:2 *t10c12* representa, aproximadamente, 10% do total (BITENCOURT, 2011; LIMA JÚNIOR *et al.*, 2011). Por outro lado, na carne bovina o isômero C18:2 *c9t11* encontra-se em menor quantidade se comparado ao leite e representa cerca de 57 a 85% do CLA total (MOURÃO *et al.*, 2005, OLIVEIRA *et al.*, 2008).

3 PRODUÇÃO DO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

O CLA pode ser produzido no organismo de animais ou de maneira sintética, sendo que no organismo pode ser formado no rúmex como intermediário da biohidrogenação incompleta dos ácidos graxos poli-insaturados presentes na alimentação dos animais ruminantes ou, endogenamente, através da dessaturação do ácido graxo trans vacênico (*trans-11* C18:1) pela enzima denominada esteroil-CoA dessaturase ou Delta-9-dessaturase, presente na glândula mamária e tecido adiposo dos animais (HASTENPFLUG; WOMMER, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2008; BONFIM *et al.*, 2011; BOTELHO *et al.*, 2005). No entanto, como o ácido vacênico é produzido principalmente através da biohidrogenação ruminal, este processo é o grande responsável pelo fato de que as maiores fontes de CLA são os produtos derivados de ruminantes (SCHIMID *et al.*, 2006; SIMIONATO, 2008, MARTINS *et al.*, 2007).

O rúmex é uma porção do estômago que é altamente povoada por bactérias e está envolvido na retenção e mistura de alimentos, que facilita a fermentação microbiana (RIEIRA, HONTECILLAS e BEITZ, 2002). Assim, o CLA é produzido naturalmente no rúmex por bactérias fermentativas, sendo a bactéria gram-negativa *Butyrivibrio fibrisolvens* a mais conhecida (FUNCK; BARRERA-ARELLANO; BLOCK, 2006; MOURÃO *et al.*, 2005). O processo de biohidrogenação do ácido linoleico e linolênico ocorre através de enzimas específicas (linoleato isomerase) (PARIZA; PARK; COOK, 1999; FUNK; BARRERA-ARELLANO; BLOCK, 2006). A isomerase produzida pela *Butyrivibrio fibrisolvens* é a enzima particularmente limitada à membrana bacteriana da célula e têm uma exigência absoluta para o sistema dieno *cis-9*, *cis-12* e grupo carboxílico livre. Contudo, se a isomerização inicial envolver a dupla ligação *cis-12*, então uma dupla conjugada *cis-9*, *trans-11* é produzida, caso seja a *cis-9*, então a dupla conjugada *trans-10*, *cis-12* é produzida (COSTA; QUEIROGA; PEREIRA, 2009).

O processo de biohidrogenação do ácido linoleico (C18:2) é dividido em três etapas: isomerização da dupla ligação *cis*-12 à configuração *trans*-11, formando um ácido graxo dienóico ou trienóico conjugado, uma reação de redução da dupla ligação *cis*-9, formando o ácido vacênico (C18:1, *trans*-11), e uma segunda reação de redução, catalisada por microrganismos secundários, que hidrogeniza a ligação *trans*-11 do ácido vacênico, formando o ácido esteárico (C18:0) (FIGUEIROA, 2010; GOUVÊA *et al.*, 2012; COSTA; QUEIROGA; PEREIRA, 2009).

4 BENEFÍCIOS DO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

O CLA tem sido relatado por apresentar efeitos benéficos na saúde, relacionado com doenças e utilizado em modelos animais e culturas de células derivadas de humanos e animais (FUKE *et al.*, 2012).

Estudos bioquímicos demonstram uma enorme variação de benefícios biológicos associados ao CLA, que além de apresentar comprovadamente propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas, atua, também, na redução de agentes citotóxicos existentes nas células cancerígenas. Além disto, o CLA desencadeia estímulos de resposta imune contra a aterosclerose, apresenta propriedade hipocolesterônica e atua na prevenção de diabetes *melittus* e de obesidade, além de ser considerado um poderoso antioxidante (SANTOS *et al.*, 2001; HOLANDA; HOLANDA; MENDONÇA JUNIOR, 2011; FUKE *et al.*, 2012; KRITCHEVSKI, 2000; HAUGEN; VIKSE; ALEXANDER, 2003; POIRIER *et al.*, 2006).

Pesquisas demonstram que o CLA apresenta efeitos anticarcinogênicos em várias fases do desenvolvimento de câncer, inclusive na iniciação, progressão e metástases. Estudos registraram redução e/ou retardamento no início de tumores quimicamente induzidos em vários órgãos de ratos e ratas, como na pele, estômago e glândulas mamárias (BELURY, 2002; IP *et al.*, 1991).

O CLA também pode interferir no desenvolvimento de câncer de uma maneira indireta através dos seus efeitos na redução da gordura corporal, uma vez que um excesso de gordura contribui como um fator de risco no desenvolvimento de carcinogênese (PARIZA; PARK; COOK, 1999).

Padilha e Pinheiro (2004) destacam que a atividade anticarcinogênica do CLA na neoplasia mamária foi evidenciada por inúmeros estudos experimentais, inclusive em experimentos *in vitro*, onde a presença de concentrações fisiológicas deste ácido graxo inibe o crescimento de células neoplásicas da mama, mantendo uma relação dose-dependente.

No sistema imunológico o CLA parece estar envolvido na proteção contra o catabolismo induzido por algumas citocinas, em especial o fator de necrose tumoral α (TNF- α), que apresenta relação com o desenvolvimento de caquexia associada ao câncer. Esse ácido graxo diminui os efeitos catabólicos adversos da estimulação do sistema imune, podendo ser utilizado em conjunto nos tratamentos de quimioterapia. Efeitos protetores contra o desenvolvimento de caquexia associada ao TNF- α podem ser observados através de uma dieta com 0,5% de CLA (RAINER; HEISS, 2004).

Outra propriedade comprovada está associada ao combate à obesidade. O CLA participa na modulação da gordura corporal, como agente repartidor de gordura, resultando na diminuição da lipogênese e aumento da lipólise no tecido adiposo. Pelo fato de aumentar o metabolismo, a taxa de oxidação das gorduras e a taxa de degradação de gorduras nos adipócitos são aumentadas resultado, conseqüentemente, em maior demanda energética (HOLANDA; HOLANDA; MENDONÇA JUNIOR, 2011).

Conforme Rainer e Heiss (2004), a adição de isômeros de CLA na alimentação de seres humanos tem apontado uma melhoria nos níveis de glicose no sangue. A suplementação com CLA aumentou a resistência de insulina em ratos e homens obesos. Os isômeros trans-10, cis-12 do CLA são os responsáveis por esse efeito, não ocorrendo com uma mistura predominante de isômeros cis-9, trans-11 e trans-10, cis-12. Pesquisas recentes têm demonstrado que o ácido linoleico conjugado influencia no diabetes *mellitus* (SEBEDIO; GNAEDIG; CHARGDIGNY, 1999), apontando efeitos de antidiabetes em ratos e uma melhora da sensibilidade à insulina (RAINER; HEISS, 2004).

Adicionalmente, o ácido linoleico conjugado tem efeito no desenvolvimento da capacidade antioxidante do plasma, sendo que uma dieta rica em CLA produz uma diminuição significativa do mau colesterol, colesterol LDL, e dos triglicerídeos plasmáticos. Ao mesmo tempo promove uma diminuição na relação colesterol- LDL/colesterol- HDL, bem como atua na diminuição da acumulação de placas ateroscleróticas nas artérias (SANHUEZA; NIETO; VALENZUELA, 2002).

5 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

A literatura cita o emprego de técnicas cromatográficas e RMN de ^1H e ^{13}C para a determinação de ácidos graxos em alimentos (ROACH *et al.*, 2002; GOLAY *et al.*, 2007; PINHEIRO, 2010; COSTA *et al.*, 2012; FUKU *et al.*, 2012; SIMIONATO *et al.*, 2010). No

entanto, a determinação de ácidos graxos requer o pré-tratamento da amostra para que os analitos sejam extraídos e convertidos a uma forma adequada para sua identificação e quantificação, de acordo com a técnica instrumental adotada (GOUVÊA *et al.*, 2012).

Devido à complexidade das matrizes compostas por misturas de ácidos graxos, como o leite e a carne de bovinos, bem como devido à semelhança estrutural dos isômeros geométricos e de posição de CLA, a principal técnica empregada para determinar e quantificar os isômeros, após a transesterificação dos ácidos graxos presentes na gordura, é a Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG/EM) ou com detecção por ionização de chama (CG/IC) (GOUVÊA *et al.*, 2012).

A Cromatografia Gasosa (CG) é a principal ferramenta analítica para a determinação e quantificação de ácidos graxos, em diversas matrizes, desde 1952 (GOUVÊA *et al.*, 2012), devido principalmente ao desenvolvimento de colunas cromatográficas cada vez maiores que possibilitam a separação dos diversos isômeros posicionais e geométricos existentes na mistura destes ácidos (SIMIONATO *et al.*, 2010).

Os ácidos graxos são encontrados nos alimentos como triacilglicerol e em menor quantidade como ácido graxos livres. Para quantificá-los por CG faz-se necessário a conversão dos TAG a ácidos graxos livres e em substâncias com menor volatilidade, sendo necessário a transesterificação dos TAG e esterificação dos ácidos graxos livres em ésteres metílico de ácidos graxos (GOUVÊA *et al.*, 2012; 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; WOLFF, 2000). Assim, para que a CG possa ser utilizada, é necessária a conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos de ácidos graxos, denominada de metilação. Esse processo permite que o ácido graxo torne-se menos polar e mais volátil, viabilizando a separação cromatográfica (FUENTE; LUNA; JUAREZ, 2006).

Os processos de metilação mais utilizados podem envolver uma catálise ácida ou uma catálise alcalina. A metilação por catálise alcalina, empregando como agentes transesterificantes o metóxido de sódio (NaOCH_3) ou hidróxido de potássio (KOH) em metanol, é considerada o processo mais seguro pois não forma isomerizações. No entanto, não é capaz de converter ácidos graxos livres. Por sua vez, a metilação por catálise ácida empregando trifluoreto de boro (BF_3), ácido clorídrico (HCl) ou ácido sulfúrico (H_2SO_4) favorece uma extensiva isomerização de dienos conjugados, podendo alterar sua

configuração, transformando isômeros *cis*, *trans* ou *trans*, *cis* em isômeros *trans*, *trans* (SIMIONATO *et al.*, 2010; FUENTE; LUNA; JUÁREZ, 2006, ALDAI *et al.*, 2005).

Devido às limitações, tanto da catálise ácida como da catálise alcalina, a catálise combinada vem sendo sugerida, uma vez que todos os ácidos graxos são esterificados, com redução da formação de estereoisômeros (PINHEIRO, 2010).

Rossato *et al.* (2010) avaliaram as características da qualidade da carne do músculo *longissimus thoracis* de bovinos Angus e Nelore, quanto à composição centesimal e componentes lipídicos. Para a determinação de ácidos graxos, após metilação por catálise alcalina, empregaram a CG com detector de Ionização de Chama. A separação dos componentes lipídicos foi alcançada com coluna capilar CP-Sil 88 (100 m × 0,25 mm de d.i. × 0,20 µm de espessura de filme), empregando gradiente de temperatura: temperatura inicial da coluna de 100°C/15 minutos; aumentada 10°C/minuto até 150°C e mantida por 5 minutos; depois a 1°C/minuto até os 158°C e mantida por 30 minutos; novamente a 1°C/minuto até 200°C e mantida por 60 minutos; temperatura do injetor de 250°C; e a do detector de 280°C. O gás de arraste utilizado foi o hélio à pressão constante de 32,78 psi. Condições de esterificação idênticas e cromatográficas, empregando rampa de aquecimento de coluna, foram empregadas com sucesso para a quantificação de CLA em leite de cabra por Maia *et al.* (2006).

Santos *et al.* (2001) empregaram catálise ácida para a obtenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, entre os quais o CLA, presentes em leite de vaca, empregando solução de H₂SO₄ e NH₄Cl em metanol, como reagente de esterificação. A análise dos ésteres metílicos dos ácidos graxos da gordura do leite foi realizada em cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama (FID). Os componentes foram separados em uma coluna Supelcovax 10 de 60 m de comprimento, com gradiente de temperatura.

Dados quantitativos fornecidos por espectros de RMN de ¹H permitem a determinação de diversos parâmetros estruturais como grau de instauração de óleos, peso molecular médio e perfil de ácidos graxos insaturados. Assim, o uso de RMN de ¹H no estudo de óleos, gorduras e alimentos que os contêm tem aumentado devido à grande quantidade de informações em curto período de tempo (TOLENTINO, 2008).

Segundo Pajunen *et al.* (2008), a análise por RMN demonstra precisão na determinação de ácidos graxos puros, permitindo a avaliação da composição lipídica em alimentos. Ainda, segundo os autores, a espectroscopia RMN ¹³C, com uma escala de deslocamento químico mais larga, mostra-se útil em fornecer conhecimento qualitativo e quantitativo de uma mistura lipídica.

Estudos realizados por Pinheiro (2010), empregando espectrômetro Brukel DPX 300 equipado com sonda de 5 mm a 25°C, operado a 75,5 MHz para os espectros de RMN ¹³C, demonstraram a viabilidade do emprego da técnica para a identificação e quantificação de CLA. Maria, Colnago e Forato (2009) desenvolveram um método alternativo à CG para determinação de CLA em gordura de carne bovina por RMN de H, sem necessidade de etapas de derivatização e purificação. Os espectros de RMN em alta resolução foram adquiridos em um espectrômetro Varian, modelo Inova 400, com ímã de 9,4 Tesla, equivalente às frequências de 400 MHz para o ¹H, com sonda de 5 mm de diâmetro. Os resultados obtidos apresentaram elevada correlação com os de Cromatografia Gasosa, mostrando a viabilidade do emprego desta técnica analítica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Produtos alimentícios de origem animal, apesar do estigma de alimentos pouco saudáveis, são capazes de promover a saúde através de substâncias encontradas naturalmente em sua composição ou proporcionadas pela dieta ao animal, como o CLA.

Ainda, o CLA emerge como uma substância importante na prevenção de câncer, sugerindo mecanismos de ação anticarcinogênicos e antioxidantes, além de ser potencialmente inibidor de diabetes *mellitus*, aterosclerose e de obesidade.

As técnicas analíticas de Cromatografia Gasosa e RMN podem ser empregadas com êxito em estudos que necessitem a identificação e quantificação dos isômeros geométricos e de posição do ácido linoleico conjugado.

REFERÊNCIAS

ALDAI, N.; MURRAY, B. E.; NAJERA, A. I.; TROY, D. J.; OSORO, K. Derivatization of fatty acids and its application for conjugated linoleic acids studies in ruminant meat lipids. *Journal of the science of food and agriculture*, v. 85, n. 7, p. 1073-1083, 2005.

BELURY, M. A. Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: Potential mechanisms of action. *J Nutr*, v. 132, p. 2995-2998, 2002.

BITTENCOURT, R. H. F. P. M. *Requeijão marajoara e queijo minas frescal produzidos com leite de búfalas (Bubalus bubalis, Lin.) no estado do Pará*. 2011. 106f. Tese (Doutorado)-Universidade Federal Fluminense, 2011.

BOMFIM, M. A. D.; QUEIROGA, R. C. E.; AGUILA, M. B.; MEDEIROS, M. C.; FISBERG, M.; RODRIGUES, M. T.; SANTOS, K. M. O.; LANNA, D. P. D. Abordagem multidisciplinar de P, D&I para o desenvolvimento de produto lácteo caprino com alto teor de

CLA e alegação de propriedade funcional. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, p. 98-106, 2011.

BOTELHO, A. P.; SANTOS-ZAGO, L. F.; REIS, S. M. P. M.; OLIVEIRA, A. C. A suplementação com ácido linoleico conjugado reduziu a gordura corporal em ratos *Wistar*. *Revista Nutrição*, Campinas, v. 18, n. 4, p. 561-565, 2005.

COSTA, R.G.; QUEIROGA, R.C.R.E.; PEREIRA, R.A.G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, p. 307-321, 2009.

COSTA, L.S.; SILVA, R.R.; SILVA, F.F.da; CARVALHO, G.G.P. de; SIMINONATO, J.I.; MARQUES, J. de A.; SILVA, V. L. da; SAMPAIO, C.B. Centesimal composition and fatty acids of meat from lambs fed diets containing soybean hulls. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 41, n. 7, p. 1720-1726, 2012.

FERNANDES, S. A. T.; NATALI, A.J.; LATERZA, M. C.; TEODORO, B. G.; FRANCO, F. S. C.; PELUZIO, M. C. G. Ácido linoleico conjugado: efeitos no perfil lipídico e na composição corporal de camundongos exercitados. *Mortiz*, Rio Claro, v. 17, n. 4, p. 683-690, out/dez. 2011.

FIGUEIROA, F. J. F. *Perfil de ácidos graxos do leite, textura da manteiga e comportamento ingestivo de vacas da raça holandesa alimentadas com grão de girassol peletizado e/ou lignosulfonato*. 2010, 53f. Dissertação (Mestrado) Universidade estadual de Maringá, 2010.

FUENTE, M.A. de la; LUNA, P.; JUÁREZ, M. Chromatographic techniques to determine conjugated linoleic acid isomers. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 25, n. 9, p. 917-926, 2006.

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

FUNCK, G.L.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, M.J. Ácido linoleico conjugado (CLA) e sua relação com doença cardiovascular e os fatores de risco associados. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 56, n. 2, p. 1-11, 2006.

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. *Food Chemistry*, v. 3, p. 1115-1120, 2007.

GOUVÊA, M.M; FRANCO, C.F.J.; MARQUES, F.F.C.; PEREIRA NETTO, A.D. Ácidos Linoleicos Conjugados (ALC)- Os Benefícios que Exercem sobre a Saúde Humana e as Principais metodologias Analíticas Aplicadas para a sua Determinação em Leites. *Revista Virtual de Química*, v. 4, n. 6, p. 653-669, 2012.

HASTENPFLUG, M.; WOMMER, T. P. Ácido linoleico conjugado no leite e carne de ovinos: uma breve revisão. *Revista Agrogeoambiental*, v. 4, n. 3, dezembro de 2012.

HAUGEN, M.; VIKSE, R.; ALEXANDER, J. CLA (Conjugated Linoleic Acid) and adverse health effects: a review of the relevant literature. *The Norwegian Institute for Public Health*, v. 33, p. 49-60, 2003.

HAYASHI, A. A. *Efeito da suplementação com ácido linoléico conjugado (CLA) na composição do leite, no perfil de ácidos graxos e na atividade de enzimas lipogênicas em ratas lactantes*. 2003. 68p. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2003.

HOLANDA, M. A. C.; HOLANDA, M. C. R.; MENDONÇA JUNIOR, A. F. Suplementação dietética de lipídios na concentração de ácido linoléico conjugado na gordura do leite. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 5, n. 3, p. 221-229, 2011.

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

IP, C.; CHIN, S.F.; SCIMECA, J.A.; PARIZA, M.W. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Research*, v. 51, p. 6118-6124, 1991.

KRITCHEVSKY, D. Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. *British journal of Nutrition*, v. 83, n. 5, p. 459-465, 2000.

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, p. 402-412, 2000.

LIMA JUNIOR, D.M.; MONTEIRO, P.B.S.; RANGEL, A.H.N.; OLIVEIRA, S.E.O.; MACIEL, M.V. Alimentos funcionais de origem animal. *Revista Verde*, v. 6, n. 1, p. 10-20, 2011.

MAIA, F.J.; BRANCO, A.F.; MOURO, G.F.; CONEGLIAN, S.M.; SANTOS, G.T. dos; MINELLA, T.F.; GUIMARÃES, K.C. Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite. *R. Bras. Zootec.*, v. 35, n. 4, p. 1504-1513, 2006.

MARIA, R.M.; COLNAGO, L.A.; FORATO, L.A. Análise do ácido linoléico conjugado em carne bovina por RMN. *Circular Técnica*, v.49, n.1, Embrapa, p. 1-3, 2009.

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

MOURÃO, D. M.; MONTEIRO, J. B. R.; COSTA, N. M. B.; STRINGHETA, P. C.; MINIM, V. P. R.; DIAS, C. M. G. C. Ácido linoléico conjugado e perda de peso. *Revista Nutrição*, Campinas, v. 18, n. 3, p. 391-399, maio/junho, 2005.

OLIVEIRA, R. L.; LADEIRA, M. M.; BARBOSA, M. A. A. F.; ASSUNÇÃO, D. M. P.; MATSUSHITA, M.; SANTOS, G. T. Ácido linoléico conjugado e perfil de ácidos graxos no músculo e na capa de gordura de novilhos bubalinos alimentados com diferentes fontes de lipídios. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 60, n. 1, p. 169-178, 2008.

OU, L.; IP, C.; LISAFELD, B.; IP, M.M. Conjugated linoleic acid induces apoptosis of murine mammary tumor cells via Bcl-2 loss. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.356, p. 1044–1049, 2007.

PADILHA, P.C.; PINHEIRO, R.L. O Papel dos Alimentos Funcionais na Prevenção e Controle do Câncer de Mama. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 50, n. 3, p. 251-260, 2004.

PAJUNEN, T.I.; KOSKELA, H.; HASE, T.; HOPIA, A. NMR properties of conjugated linoleic acid (CLA) methyl ester hydroperoxides. *Chemistry and Physics of Lipids.*, v. 154, n. 2, p.105-114, 2008.

PARIZA, M.W.; PARK, Y.; COOK, M.E. Conjugated acid and the controlo f câncer and obesity. *Toxicol. Sci.*, v. 52, p. 107-110,1999.

PEREIRA, E. S.; PIMENTEL, P. G.; BOMFIM, M. A. D.; CARNEIRO, M. S. S.; CÂNDIDO, M. J. D. Torta de girassol em rações de vacas em lactação: produção microbiana, produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá, v. 33, n. 4, p. 387-394, 2011.

PINHEIRO, F. G. *Ácido linoléico conjugado em cortes bovinos e laticínios: a avaliação de metodologias analíticas para a quantização dos isômeros conjugados majoritários*. 2010. 69f. Dissertação (Mestrado)-Universidade de São Paulo, 2010.

POIRIER, H.; SHAPIRO, J.S.; KIM, R.J.; LAZAR, M.A. Nutritional Supplementation with trans-10, cis-12- Conjugated Linoleic Acid. Induces Inflammation of White Adipose Tissue. *Diabetes*, v. 55, p. 1634-1641, 2006.

RAINER, L.; HEISS, C.J. Conjugated linoleic acid health implications and effects on body composition. *Journal of The American Dietetic Association*, v.104, n. 6, p. 963-968, June 2004

RIEIRA, J. B.; HONTECILLAS, R.; BEITZ, D. C. Colonic anti-inflammatory mechanisms of conjugad linoleic acid. *Clinical Nutrition*, v. 21, n. 6, p. 451-459, 2002.

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

ROSSATO, L.V.; BRESSAN, M.C.; RODRIGUES, E.C.; GAMA, L. T. da; BESSA, R.J.B.; ALVES, S.P.A. Parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos Angus e Nelore terminados em pastagem. *R. Bras. Zootec.*, v. 39, n. 5, p. 1127-1134, 2010.

SANHUEZA, J.C.; NIETO, K.S.; VALENZUELA, B.A. Acido linoleico conjugado: um acido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. *Revista chilena de nutrición.*, v. 29, n. 2, 2002

SANTOS, L.D.; FURUYA, W.M.; SILVA, T.S.C.; MICHELATO, M.; MATSUSHITA, M. Ácido linoleico conjugado em dietas para pacu: tempo de deposição, desempenho e perfil de ácidos graxos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, n. 6, p. 980-988, 2009.

SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R. de P.; BRANDÃO, S.C.C.; VARGAS, L.H.; ABREU, L.R. de. 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, n. 6, p. 1931-1938, 2001.

SCHIMID, A.; COLLOMB, M.; SIEBER, R.; BEE, G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. *Meat Science*, v. 73, p. 29-41, 2006.

SEBEDIO, J.L.; GNAEDIG, S.; CHARGDIGNY, J. Recent advances in conjugated linoleic acid research. *Current opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, v. 2, p. 499-506, 1999.

SIMIONATO, J. I. *Composição química e quantificação de ácidos graxos com ênfase ao ácido linoléico conjugado (CLA) em leite e derivados*. 2008. 132f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, 2008.

SIMIONATO, J. I; GARCIA, J.C.; SANTOS, G.T. dos; OLIVEIRA, C.C.; VISENTAINER, J.V.; SOUZA, N.E. de. Validation of the Determination of Fatty Acids in Milk by Gas Chromatography. *J Braz Chem Soc*, v. 21, p. 520-524, 2010.

TOLENTINO, M. C. *Avaliação da qualidade de óleos vegetais sob estresse fotooxidativo e termoxidativo por espectroscopia de UV e RMN de ¹H*. 2008. 99f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2008.