

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JULIANA LISBOA BIOTTO CARVALHO BUENO

**Influência da adição de óleo de soja no perfil
oxidativo de concentrado para bovino**

Pirassununga

2012

JULIANA LISBOA BIOTTO CARVALHO BUENO

**Influência da adição de óleo de soja no perfil
oxidativo de concentrado para bovino**

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientadora: Profa. Dra. Mariza Pires de Melo

Pirassununga

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

B928i

Bueno, Juliana Lisboa Biotto Carvalho
Influência da adição de óleo de soja no perfil
Oxidativo de concentrado para bovino / Juliana Lisboa
Biotto Carvalho Bueno. -- Pirassununga, 2011.
78 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Ciências Básicas.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
Orientadora: Profa. Dra. Mariza Pires de Melo.

1. Densidade energética 2. Óleo refinado 3. Óleo
degomado 4. Rancificação 5. Ração. I. Título.

A Deus que me deu a VIDA;

*Ao meu pai Joel, “in memorian”, pelo exemplo de vida,
superação, meu porto seguro;*

À Profa. Dra. Mariza, serena e guerreira;

Ao meu marido Fábio, pela paciência e companheirismo;

Ao meu filho Joel Neto, minha luz para viver;

À minha mãe Vanda, pelo incentivo e amor;

À minha irmã Flávia, pelo apoio;

*À minha família, porque sem ela, com certeza, não teria
caminhado até aqui.*

Dedico este trabalho

Agradecimentos

A Deus, guia e protetor dos meus passos.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, pela oportunidade de estudar em uma instituição de ensino de excelência.

À FAPESP pelo apoio financeiro para aquisição de material e execução deste projeto.

À Profa. Dra. Mariza Pires de Melo pelo empenho e dedicação, além do amor e compreensão. Sou eternamente grata pelo acolhimento e paciência, motivação e superação, sem a qual teria desistido. Obrigada por tudo que fez por mim incondicionalmente. Que Deus a abençoe e ilumine toda a sua família.

À Dra. Luciane Tavares da Cunha pelo empenho e dedicação no auxílio às análises e na árdua conclusão desse projeto. Muito obrigada por colaborar com seus ensinamentos transmitidos e exaustiva dedicação.

À Especialista em Laboratório Silvana Marina Piccoli Pugine pela paciência, competência e compaixão no auxílio às minhas análises e estima dedicação deste projeto.

Ao Dr. Gustavo Ribeiro Del Claro, pela solicitude e empenho na preparação do concentrado bovino utilizado neste projeto, a matéria-prima, elemento de essencial destaque nesse projeto. Agradeço a colaboração.

Aos funcionários da FZEA/USP pelos momentos aprazíveis da vida “uspiana”.

À Layla, Alecsandra e Cláudio pela paciência e atenção, em especial à Conceição.

Aos amigos do Laboratório de Química Biológica, que foram solícitos na minha recepção, Patrícia, Eliane, Alessandra, Andréia, Pamela, Romy, Rafaela, Roberto, Roberta, Simone e Márcia. Serão inesquecíveis pelo carinho.

Aos estagiários do Laboratório de Química Biológica, Natana, Marcos, Nathalia e Martin pelo apoio e amizade.

A todos os estagiários, que muito contribuíram para o bom andamento das análises, em especial Paulo, Suellen e Natália.

Aos queridos colegas de disciplinas da FZEA, pelos ensinamentos compartilhados.

A todos os professores que enriqueceram meu fascínio pelo aprendizado e agregaram preciosos valores à minha vida profissional.

Ao meu papai Joel, pela confiança e incentivo, não somente nos estudos, mas em todos os momentos da minha vida. Acreditou no meu potencial e transformou-me nesse ser humano iluminado e privilegiado por tê-lo como Pai nessa vida terrena. Sinto não poder compartilhar esse momento único da minha vida, partistes cedo demais... mas, acredito que estás muito feliz e orgulhoso. Obrigada pela educação e ensinamento dos valores da vida e como vivê-la com humildade, simplicidade e carinho. Ensinou-me que a felicidade está nas pequenas coisas e devemos aproveitar cada instante, pois ele é único e irrevogável. Um homem com tantas virtudes, somente poderia deixar um vazio insubstituível no meu coração e uma saudade arrebatadora.

Aos meus familiares, meu marido Fabinho, meu filho Joel Neto, minha mãe Vanda, minha irmã Flávia, meu tio Péricles, meus filhos de pêlos Jimmy, Dara, Scott e Duda, e ao meu filho de penas Pedrão.

A todos que ajudaram direta ou indiretamente, meus sinceros agradecimentos.

*“Bom mesmo é ir à luta com determinação,
abraçar a vida e viver com paixão,
perder com classe e vencer com ousadia,
porque o mundo pertence a quem mais se atreve
e a vida é muito...
para ser insignificante.”*

Charles Chaplin

RESUMO

BUENO, J.L.B.C. **Influência da adição de óleo de soja no perfil oxidativo de concentrado para bovino.** 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

O objetivo deste trabalho foi estudar o perfil oxidativo de concentrados para bovinos adicionados de óleo de soja, refinado e degomado, em um período de armazenamento de 15 dias, sob as temperaturas de 25°C e 40°C. Foram formados cinco grupos de alimentos: controle (C) sem adição de óleo, tratamentos (T) 1, 2, 3 e 4 com adição de 2, 4, 6 e 8%, respectivamente, de óleo de soja refinado ou degomado. Para tal, foram avaliados os índices de peróxidos e de acidez. Com relação à influência da temperatura de estocagem, ao longo do período experimental à 25°C, não houve alteração com relação aos valores de índice de peróxido quando se adicionou óleo de soja refinado aos concentrados, contudo, à 40°C, houve aumento observando-se um valor máximo em torno de 0,9 mEq/kg de concentrado. O índice de acidez do óleo refinado extraído dos concentrados armazenados à 25°C não foi alterado ao longo do período de armazenamento, e à 40°C resultou em aumento de 19, 25, 44 e 44% para os respectivos T1, T2, T3 e T4 em relação ao controle. Quanto à influência do tipo de óleo processado na oxidação lipídica dos concentrados armazenados à 40°C, a adição de óleo de soja refinado não alterou os índices de peróxidos dos concentrados ao longo dos 15 dias de experimento, e para o degomado observou-se um aumento no 3º dia de armazenamento em 57%, 44%, 123% e 93% para os respectivos T1, T2, T3 e T4, em relação ao controle. Também, o efeito da adição de óleo de soja degomado resultou em aumento do índice de acidez de 21%, 36%, 43% e 57% a partir do 5º dia de experimento, em relação ao 1º dia. Conclui-se que durante os 15 dias de armazenamento, houve diferença no perfil oxidativo dos concentrados adicionados de óleo de soja quando se comparou as temperaturas de 25°C e 40°C, mas se manteve inalterado quando se avaliou os tipos de óleo refinado e degomado em diferentes porcentagens. Assim, a adição de óleo de soja refinado ou degomado não altera o perfil oxidativo do concentrado para bovino sob as condições deste estudo.

Palavras-chave: densidade energética, óleo degomado, óleo refinado, rancificação, ração.

ABSTRACT

BUENO, J.L.B.C. **Influence of addition of soybean oil in the oxidative profile of concentrate for cattle.** 2012. 70 f. M.Sc. Dissertation - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

The objective of this work was to study the oxidative profile of concentrates for cattle added soybean oil, refined and degummed in a storage period of 15 days, at temperatures of 25°C and 40°C. Were formed five food groups: control (C) without addition of oil, treatments (T) 1, 2, 3 and 4 with the addition of 2, 4, 6 and 8%, respectively, of refined or degummed soybean oil. For this purpose were available index of peroxide and of acidic. Regarding the influence of storage temperature, the addition of refined soybean oil did not alter the values of the peroxide during the trial period at 25°C, however, at 40°C of storage of food alter this parameter and was shown a maximum value about 0.9 mEq/kg of concentrate. The acidity of refined oil extracted from concentrates stored at 25°C was not changed during the storage period, and 40°C resulted in an increase of 19, 25, 44 and 44% for the respective T1, T2, T3 and T4 compared the control. Regarding the influence of oil processed in lipid oxidation of concentrates stored at 40°C, the addition of refined soybean oil did not alter the levels of peroxide concentrates over the 15 days of experiment, and the degummed observed an increase in 3rd day of storage in 57%, 44%, 123% and 93% for the respective T1, T2, T3 and T4, compared to control. Also, the effect of addition of crude soybean oil resulted in increased acid value of 21%, 36%, 43% and 57% from the 5th day of experiment, as compared to day 1. Thus, the addition of refined soybean oil or degummed not change profile for bovine oxidative concentrated under the conditions of this study.

Keywords: energy density, degummed soybean oil, refined soybean oil, rancidity, feed.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Reação de esterificação de uma molécula de glicerol com ácido graxo.....	20
Figura 2 - Estrutura geral de um triacilglicerol	21
Figura 3 - Estágios do processo de oxidação	29
Figura 4 - Iniciação de oxidação na presença de ferro (Fe) e cobre (Cu)	30
Figura 5 - Quebras na cadeia do triacilglicerol	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de ácidos graxos de alguns óleos vegetais	22
Tabela 2 - Composição percentual do concentrado	35
Tabela 3 - Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), cinzas, extrato etéreo (EE), pH e acidez titulável avaliados nos concentrados controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado em 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4)	45
Tabela 4 - Valores de pH (média ± desvio padrão, n=3) dos concentrados controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado ou degomado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4) obtidos no 1° e 15° dia de experimento	53
Tabela 5 - Porcentagem de acidez (v/p) dos concentrados controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado ou degomado T1, T2, T3 e T4 obtidos no 1° e 15° dia de experimento	53

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Influência da temperatura de armazenamento sobre o índice de peróxido no concentrado controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4): (a) 25°C e (b) 40°C. Resultados expressos como média e desvio padrão de 4 experimentos realizados em duplicata47
- Gráfico 2 - Influência da temperatura de armazenamento sobre o índice de acidez no concentrado controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4): (a) 25°C e (b) 40°C. Resultados expressos como média e desvio padrão de 4 experimentos realizados em duplicata51
- Gráfico 3 - Influência do tipo de óleo, refinado (a) e degomado (b), sobre o índice de peróxido no concentrado controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4) armazenado a 40°C. Resultados expressos como media e desvio padrão de 4 experimentos realizados em duplicata54
- Gráfico 4 - Influência do tipo de óleo, refinado (a) e degomado (b), sobre o índice de acidez no concentrado controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4) armazenado a 40°C. Resultados expressos como média e desvio padrão de 4 experimentos realizados em duplicata57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C Cinzas

(C) Tratamento Controle

CA Conversão alimentar

EE Extrato etéreo

FB Fibra Bruta

FDN Fibra Detergente Neutro

MS Matéria Seca

PB Proteína Bruta

(T1) Tratamento 1

(T2) Tratamento 2

(T3) Tratamento 3

(T4) Tratamento 4

LISTA DE SÍMBOLOS

°C graus *Celsius*

% porcentagem

Kg quilograma

mg miligrama

g grama

mL mililitro

N normal

M molar

µg/mL micrograma por mililitro

nm nanômetro

OH hidroxil

ppm parte por milhão

cis os substituintes estão no mesmo lado da dupla ligação ou no mesmo lado do cicloalcano

trans os substituintes estão no lado oposto da dupla ligação ou em lados opostos do cicloalcano

UV ultravioleta

RH ácidos graxos insaturados

R· radical livre

RO₂· radical peroxil

ROOH hidroperóxido ou peróxido

RO· radical alcoxil

·OH radical hidroxil

ROH composto hidroxilado

Fe³⁺ íon férrico

Fe²⁺ íon ferroso

H⁺ íon hidrogênio

Cu²⁺ íon cúprico

Cu⁺ íon cuproso

Fe ferro

Cu cobre

mg/kg miligrama por quilo

H₂SO₄ ácido sulfúrico

HCl ácido clorídrico

NaOH hidróxido de sódio

rpm rotações por minuto

Na₂SO₄ sulfato de sódio

KOH hidróxido de potássio

FeSO₄ sulfato ferroso

BaCl₂ cloreto de bário

mEq/kg miliequivalente por quilograma

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE GRÁFICOS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	11
LISTA DE SÍMBOLOS	12
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Algumas abordagens sobre nutrição de bovinos	18
2.1.1 Bovinocultura	18
2.1.2 Arraçoamento de bovinos e lipídeos em concentrados	18
2.2 Lipídeos	20
2.2.1 Características	20
2.2.2 Óleos vegetais na nutrição animal	22
2.2.2.1 Óleo de soja	23
2.2.3 Oxidação lipídica	25
2.2.4 Tipos de rancidez	28
2.2.5 Testes de mensuração de oxidação de óleos	30
2.2.5.1 Índice de acidez	30
2.2.5.2 Índice de peróxido	31
3 OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo geral	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 Reagentes e meio de cultura	34

4.2 Delineamento Experimental	34
4.3 Formulação do Concentrado	35
4.4 Acondicionamento das amostras de concentrados durante o período experimental	36
4.5 Composição centesimal do concentrado	36
4.5.1 Determinação da Matéria seca e umidade	36
4.5.2 Determinação de proteína por KJELDAHL	37
4.5.3 Cinzas (C)	38
4.6 Determinação do pH dos concentrados	39
4.7 Determinação da acidez (solúvel em etanol 95%) dos concentrados	39
4.8 Determinação dos índices de peróxido e acidez dos lipídeos extraídos dos concentrados	40
4.8.1 Determinação do índice de acidez	41
4.8.2 Determinação do índice de peróxido	42
4.9 Expressão dos resultados e análises estatísticas	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 Caracterização do concentrado	44
5.2 Influência da temperatura de estocagem na oxidação lipídica dos concentrados adicionados de óleo de soja refinado	46
5.3 Influência do tipo de óleo processado na oxidação lipídica dos concentrados armazenados a 40°C	53
6 CONCLUSÕES	59
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1. INTRODUÇÃO

Os lipídeos presentes ou adicionados aos alimentos assumem um papel muito importante na nutrição humana e animal. Em termos de qualidade organoléptica, os lipídeos tornam os alimentos desejáveis para o consumo devido ao incremento de características como sabor, aroma, cor e textura, e nutricionalmente os lipídeos se constituem em uma excelente fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais e de vitaminas lipossolúveis. Na nutrição animal, os alimentos concentrados geralmente possuem ou são acrescidos de lipídeos, com a finalidade de ajustar seus níveis energéticos. Diferentes fontes de lipídeos podem ser utilizadas em formulações de um alimento concentrado. Contudo um dos ingredientes mais utilizados são os grãos, os quais são naturalmente constituídos de óleos. Um grão muito importante e que domina o mercado mundial, tanto em proteína vegetal como em óleo comestível, é a soja, pois está entre os doze principais vegetais oleaginosos que contribuem com mais de 95% da produção mundial dos óleos vegetais (GERMANO; GERMANO, 2001). O óleo de soja se tornou, ao longo do tempo, um dos líderes mundiais no mercado de óleos e surgiu como um subproduto do processamento do farelo de soja (MORETTO; FETT, 1998).

Os lipídeos são compostos que sofrem reações químicas podendo tornar o alimento impróprio para o consumo, devido à sua deterioração e redução do valor nutricional, fatores diretamente relacionados à sua qualidade. Rações contendo óleos podem apresentar muitos problemas de estabilidade, devido a diferentes fatores como alterações nas condições de temperatura, umidade e armazenamento, pois favorecem o processo de oxidação lipídica. A oxidação de óleos pode formar produtos indesejáveis nos alimentos, como peróxidos e intermediários reativos chamados radicais livres, os quais depreciam a qualidade das rações e interferem em parâmetros zootécnicos como a redução da palatabilidade do alimento pelos animais. A deterioração oxidativa dos lipídeos pode ocasionar aromas rançosos e também o branqueamento do alimento devido à reação dos pigmentos, como os carotenóides, com os radicais livres. Os radicais livres podem reagir com vitaminas, devido à perda da sua ação como antioxidante, e levar a uma redução da qualidade nutricional do alimento (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2011).

A oxidação dos lipídeos dos alimentos pode ser avaliada para se obter um estudo sistemático de desenvolvimento de ranço. Esta oxidação pode ser mensurada através de testes como a determinação do índice de peróxido e pelo nível de peroxidação lipídica, avaliada por meio do índice de acidez. Estes testes podem possibilitar uma maior compreensão sobre a qualidade dos óleos presentes nos alimentos e, assim, por exemplo, poder se verificar a estabilidade de uma ração.

As oxidações dos lipídeos adicionados em ração animal, principalmente em ração para bovinos, é uma abordagem que necessita de mais estudos e pesquisas. Assim, este trabalho estudou o perfil oxidativo de concentrados para bovinos, adicionados de óleo de soja de dois tipos de processamento, o refinado e o degomado, em um período de armazenamento de 15 dias, sob as temperaturas de 25°C e 40°C.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Algumas abordagens sobre nutrição de bovinos

2.1.1 Bovinocultura

A bovinocultura é uma das principais atividades econômicas no Brasil e vem se destacando no mercado internacional tanto na produção de carne quanto na produção de leite. Atualmente, o sistema de confinamento na bovinocultura é economicamente importante para os pecuaristas, pois visam aumentar a eficiência produtiva dos rebanhos através da aplicação de novas tecnologias e redução de custos (CARDOSO; VALADARES FILHO; COELHO DA SILVA, 2000). No Brasil, devido às suas características climáticas e extensão territorial, os sistemas de produção bovina caracterizam-se pelo uso quase que exclusivo de pastagens, sendo a técnica de confinamento conduzida com frequência durante a época seca do ano, por ser o período de escassez de forragem para pastejo (KORRES et al., 2002). Em climas tropicais, onde se têm a primavera e o verão com altas temperaturas e alto índice pluviométrico, obtém-se uma grande produção de gramíneas forrageiras, já no outono e inverno, as diminuições do período de luz e da temperatura interferem diretamente na realização da fotossíntese pelos vegetais levando a um decréscimo na produção de matéria seca (KORRES et al., 2002). Desta forma, segundo Korres et al. (2002), a oferta da silagem e de alimentos concentrados aos animais é uma forma alternativa de alimentação e uma solução para o período seco crítico do ano.

2.1.2 Arraçoamento de bovinos e lipídeos em concentrados

O arraçoamento é o fornecimento diário de alimento aos animais e as pastagens são consideradas a fonte mais econômica para a alimentação de bovinos no Brasil. Os alimentos fornecidos aos animais são classificados em volumosos e concentrados. Os alimentos volumosos são aqueles alimentos mais fibrosos que

apresentam em sua composição bromatológica níveis de fibra bruta (FB) na matéria seca (MS) superiores a 18%. Os alimentos volumosos mais utilizados na nutrição de ruminantes são: feno de gramíneas, feno de alfafa, cana-de-açúcar, capins para corte em capineiras, capins para pastejo, bagaço de cana cru, bagaço de cana hidrolisado, e as silagens de milho, de sorgo, de capim e de cana. As silagens mais utilizadas no Brasil são de milho, sorgo e capim elefante, devendo para tanto ter no mínimo 40% de grãos (KORRES et al., 2002). Estas forrageiras são mais indicadas, pois proporcionam uma grande produção de massa seca por unidade de área, de fácil plantio e colheita. Segundo Forbes (1995), as dietas à base de volumosos, caracterizadas pela elevada proporção de fibra, influenciam o consumo pelas características peculiares do trato digestivo dos ruminantes, com longos períodos de permanência do alimento e grande capacidade física de armazenamento do pré-estômago, sendo o mecanismo que regula o consumo, a distensão ruminal, influenciado pelas taxas de digestão e de passagem do alimento.

Os concentrados são alimentos que se tornam alternativos na nutrição de ruminantes. Estes alimentos geralmente possuem níveis de FB na matéria seca inferiores a 18% e são subdivididos em dois grupos: energéticos e protéicos. O concentrado protéico é formado por alimentos com mais de 20% de proteína bruta (PB) na MS, enquanto aqueles alimentos com menos de 20% de PB na matéria seca são classificados como alimentos concentrados energéticos (ARAÚJO FILHO, 1985). Van Soest (1965), afirma que o teor energético dos alimentos concentrados, as rações, tem grande influência sobre o desempenho dos animais, pois seu consumo mantém a ingestão constante de energia. O fornecimento de concentrado eleva o teor de energia das dietas, acarreta em aumento nos custos de produção e possibilita maior ocorrência de distúrbios fisiológicos nos animais, entretanto, permite o fornecimento de nutrientes concentrados, recomendados para animais com alto potencial para ganho de peso.

As rações, atualmente, têm sido formuladas com adição de diferentes fontes de lipídeos com o objetivo de aumentar o nível de energia das dietas. O valor energético desses lipídeos é 2,25 vezes maior que o dos carboidratos (REDDY; MORRIL; NAGARAJA, 1994; SIMAS, 1998) e, assim, pode contribuir para aumentar a produção animal. Para os animais, a presença de óleos nas rações pode proporcionar efeitos desejáveis como inibição da produção de metano e amônia no

rúmen e aumento na eficiência de síntese microbiana (VAN NEVEL; DEMEYER, 1988; HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997), e por outro lado, pode apresentar efeitos indesejáveis, como redução na digestibilidade de MS e celulose (SCHNEIDER; FLATT, 1975; SCHAUFF; ELLIOTT; CLARK, 1992).

2.2 Lipídeos

2.2.1 Características

Os lipídeos são substâncias insolúveis em água, formados predominantemente por ésteres de triglicerídeo (MORETTO; FETT, 1998), resultado da esterificação de uma molécula de glicerol com ácidos graxos (Figura 1), sendo os principais responsáveis pelo desenvolvimento do ranço (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

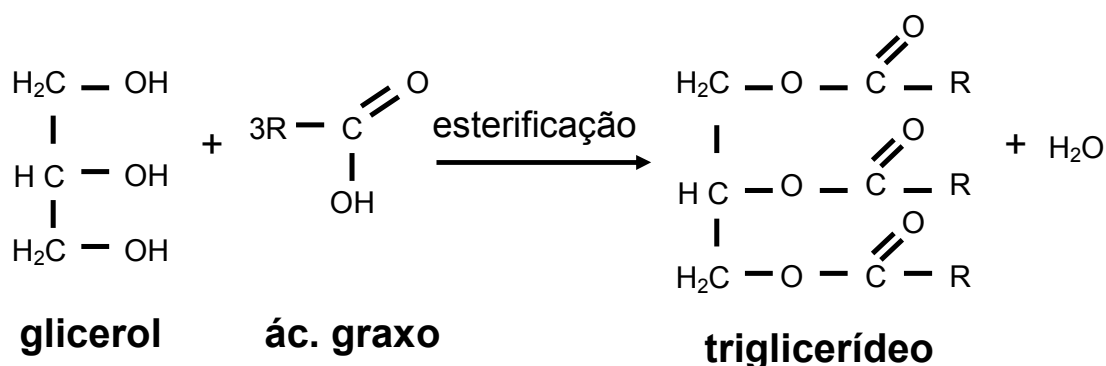


Figura 1 - Reação de esterificação de uma molécula de glicerol com ácido graxo. Adaptado de Souza (2007).

Os óleos vegetais crus contêm vários componentes em menor proporção como fosfolipídeos, glicolipídeos, mono e diglicerídeos e ácidos graxos livres, ceras e outros hidrocarbonetos, pigmentos, compostos de odor ativo, dentre outros (BELINATO, 2010). Os triglicerídeos (Figura 2), à temperatura ambiente se

apresentam líquidos e são denominados óleos e os que se apresentam com consistência sólida, são denominados gordura (GIESE, 1996; FARIA et al., 2002). As gorduras são sólidas à temperatura ambiente devido a uma característica saturada dos seus ácidos graxos apresentando pontos de fusão mais elevados quando comparados aos pontos de fusão dos óleos.

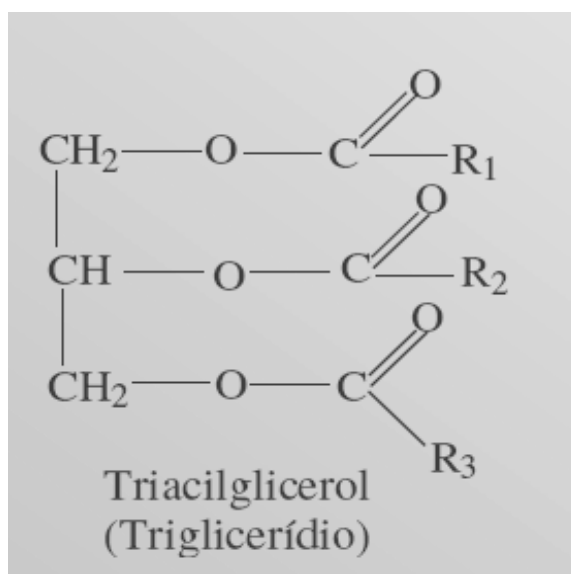


Figura 2 - Estrutura geral de um triacilglicerol.

Fonte: Arellano (2011).

Os óleos vegetais refinados possuem uma composição química uniforme e são abundantes em ácidos graxos. Esses ácidos graxos podem ser classificados em saturados quando não possuem dupla ligação, como ácidos palmínicos e esteáricos; monoinsaturados aqueles que contêm uma dupla ligação, como ácido oléico; poliinsaturados aqueles que contêm várias duplas ligações, como ácidos linoléico e linolênico; e aqueles que contêm grupos funcionais como hidroxila em ácidos ricinoléico e lesquerólico, e como epóxi em ácido vernólico (BELINATO, 2010). Na Tabela 1, são apresentados alguns exemplos de óleos vegetais e seus respectivos teores de ácidos graxos (MORETTO; FETT, 1998).

Tabela 1 - Teor de ácidos graxos de alguns óleos vegetais.

Óleos	Ácido graxo saturado	Ácido graxo monoinsaturado	Ácido graxo poliinsaturado	
			Ácido Linoléico	Ácido Linolênico
Soja	15%	24%	54%	7%
Canola	6%	58%	26%	10%
Girassol	11%	2%	69%	-
Milho	13%	25%	61%	1%
Oliva	14%	77%	8%	< 1%

Fonte: MORETTO; FETT, 1998, modificado.

2.2.2 Óleos vegetais na nutrição animal

No mundo, mais de 60 milhões de toneladas de óleos são produzidos por ano, para fins alimentícios. Na última década, a produção mundial de óleos e gorduras vegetais aumentou em mais de 50% e os óleos de soja, girassol e milho compõem mais da metade desta produção (RIBEIRO et al, 2005). O Brasil é o sexto produtor de óleos e gorduras vegetais ficando atrás da Malásia, China, Indonésia, Estados Unidos e Índia (FAO, 2009).

Atualmente, existe no mercado brasileiro, uma grande variedade de óleos que são processados em indústrias de alimentos. Os óleos mais comumente encontrados são os de milho, algodão, oliva, girassol, canola, amendoim, arroz, sendo que o de soja possui menor preço e tem participado em formulações de rações experimentais. Fontes de lipídeos advindos de grãos de várias origens são misturados e

incorporados aos alimentos, inclusive, em concentrados de nutrição animal (BELTRÃO, 1999).

O óleo de algodão, por exemplo, contém altos teores de lipídeos, 14 a 25% em média, proteínas e fibra bruta (SOLOMONS, 2002). Contudo, Beaudoin (1985) afirma que a qualidade nutricional do óleo de algodão é limitada pela presença de gossipol, um pigmento amarelo natural, que pode interferir em processos bioquímicos, pois inibe a atividade de várias enzimas. Outro óleo muito utilizado é o de girassol, que apresenta características desejáveis sob o ponto de vista agrônômico e bom rendimento na extração, tornando-se uma boa opção para os produtores brasileiros (PELEGRINI, 1985).

2.2.2.1 Óleo de soja

No Brasil, a produção do óleo de soja já atingiu mais de seis milhões de toneladas na safra 2007 e 2008, segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE). A evolução do consumo aparente do óleo de soja, alimentícia e industrial, nos últimos 10 anos cresceu 36%, atingindo um consumo interno de 3,6 milhões de toneladas (ABIOVE, 2010). A soja é uma oleaginosa cultivada em quase todas as regiões do território nacional e tem sido bastante empregada na nutrição animal no Brasil. De acordo com Stern e Illg (1991), o grão de soja contém, aproximadamente, 19% de gordura e 39% de proteína bruta e tem sido bastante empregado na composição de concentrado para bovinos, em substituição ao farelo de soja, por oferecer mais energia líquida (NRC, 1989). O óleo de soja possui muitas vantagens por conter alto conteúdo de ácidos graxos essenciais, por formar grandes cristais os quais são facilmente filtráveis quando o óleo é hidrogenado e fracionado, por conter alto índice de iodo que permite a sua hidrogenação, e também possibilitar um refino com baixas perdas (POUZET, 1996).

O óleo de soja é obtido dos grãos da soja (*Glycine maxima* (L.) Merrill) sendo comumente classificado segundo o seu grau de elaboração e qualidade. O óleo bruto ou cru é o óleo extraído do grão; o óleo degomado ou purificado é o óleo obtido, quando, após seu processamento, são extraídos os fosfolipídeos; e o óleo refinado é designado quando, após seu processamento e degomagem, é

neutralizado, clarificado e desodorizado. Depois da extração, o óleo de soja passa por diferentes etapas, denominadas refino. Há o processo de degomagem do óleo, operação destinada à remoção dos fosfolipídeos, lecitina, gomas e de 70 e 98% de fósforo, diminuindo seu conteúdo de 500-900 ppm no óleo cru para 12-170 ppm no óleo degomado (WIEDERMANN citado por LIU, 1997), sabendo-se que para exportação, os óleos devem conter 0,02% de fosfolipídeos. A degomagem não é uma prática universal na industrialização do óleo pelo fato dos fosfolipídeos terem ação surfactante que ajuda na emulsão, mas, sua presença no óleo cru, causa perdas de triglicerídeos na fase do refino cáustico, quando a fase aquosa é aderida ao óleo.

A neutralização do óleo é a remoção de ácidos graxos livres, os quais produzem fumaça e espuma, por meios alcalinos, sendo a mais utilizada tanto no óleo cru quanto no degomado. Os ácidos graxos livres são separados por meio da adição de solução de hidróxido de sódio ao óleo, e o produto resultante é o oleato de sódio, o qual é removido por centrifugação e utilizado para fazer sabão. O índice de ácidos graxos livres no óleo antes do refino varia entre 0,3 e 0,7% e deve ser reduzido para o máximo de 0,05%. O branqueamento é a operação que reduz a turbidez do óleo através da eliminação de resíduos remanescentes do refino, de produtos oxidados e de íons metálicos. É geralmente realizado por meio de um processo de adsorção ao vácuo, em que os menores componentes e finos são aderidos a um adsorvente, ocorrendo a uma temperatura próxima de 100°C. O último processo, a desodorização, consiste em submeter o óleo ao vácuo, com temperatura variando entre 204 e 274°C, ao ponto de vaporizar os componentes voláteis indesejáveis. (WIEDERMANN citado por LIU, 1997).

Segundo Liu (1997), o óleo cru contém óleos insolúveis e solúveis, com impurezas como fragmentos de sementes, excesso de umidade e frações de ceras dando-lhe uma aparência turva. As impurezas dos óleos solúveis são constituídas por fosfatídeos, ácidos graxos livres, substâncias mucilaginosas, corantes, tocoferóis, esteróis, hidrocarbonetos, cetonas e aldeídos. No processo de refino, componentes do óleo, como miscelas e lecitinas, podem ser removidos e aqueles que ainda permanecem no óleo refinado, mesmo em traços, podem afetar características dos óleos, como possuir ação pró-oxidante, ser fortemente odorífero, ter sabor acentuado ou ser altamente colorido. A miscela é formada pela mistura de

óleo com solvente, obtida após o processo de extração, e as lecitinas são componentes naturais da soja (CASEY, 2010), que melhoram o nível nutricional das dietas através da emulsificação das gorduras, permitindo um aumento na sua digestão e absorção (LINDSEY, 2011), apresentando uma função importante como antioxidante natural, no uso de rações animais (CASEY, 2010). A lecitina constitui 1,5 a 3,0% do óleo bruto sendo separada por hidratação e centrifugação do óleo. O produto sem lecitina denomina-se óleo degomado, usado na indústria química e alimentícia e segue o processo de refinação, podendo ser químico ou físico. O óleo recebe um tratamento para eliminação de acidez livre e gomas mucilaginosas, obtendo-se o óleo neutro e a borra. A borra é usada para fabricação de sabão e, acidulada, obtêm-se ácidos graxos que podem ser usados na fabricação de rações. O óleo neutro é lavado várias vezes, seco e desodorizado, sendo então comercializado a granel ou envasado para cozinha (CASEY, 2010).

2.2.3 Oxidação lipídica

A oxidação é a principal forma de deterioração de óleos vegetais. O termo oxidação de lipídeos refere-se a uma série complexa de reações químicas, envolvendo ácidos graxos insaturados e oxigênio e a estabilidade de óleos é definida como o tempo para se atingir o nível de rancidez detectável, ou alteração na taxa de oxidação. A oxidação lipídica pode comprometer características sensoriais como aroma, sabor, cor e textura, além de produzir substâncias tóxicas. Os óleos vegetais começam a deteriorar quando manipulados de uma maneira não adequada, e acabam afetando não só sua qualidade nutricional devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos pela formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (FENNEMA, 2000).

A oxidação de lipídeos forma produtos como os peróxidos que, por sua vez, geram radicais livres e radicais peróxidos. Os radicais peróxidos possuem baixa estabilidade e se decompõem em outros produtos intermediários como aldeídos (por exemplo, malonaldeído, também denominado malondialdeído), alcoóis, cetonas e hidrocarbonetos, sendo que muitos deles possuem um odor desagradável, enquanto

os peróxidos, são incolores e inodoros. No início da oxidação há um aumento na concentração de peróxidos, que em determinado momento, se reduz devido à fraca estabilidade deste radical. Contudo, a concentração de aldeídos, apesar de aumentar mais lentamente, não se reduz, atingindo níveis elevados ao final do processo. Alguns fatores estão relacionados com o processo de oxidação como a proporção dos ácidos graxos constituintes nos triglicerídeos, as condições às quais se submete o alimento, o tipo de embalagem e armazenamento do alimento, dentre outros. A proporção de ácidos graxos poliinsaturados nos lipídeos reflete em uma maior ou menor estabilidade oxidativa, principalmente devido à predominância dos ácidos linolêicos e linolênicos (QUINTEIRO; VIANNI, 1995).

Diversos fatores podem acelerar o processo de oxidação de lipídeos. De acordo com Nawar (1996), a presença de metais que apresentam mais de um estado de valência, como cobalto, cobre, ferro, manganês e níquel, podem contribuir para a ocorrência desse processo, e esses metais são encontrados na maioria dos óleos comestíveis, originários da própria terra onde suas sementes foram cultivadas. Os ácidos graxos livres, também podem incorporar metais catalíticos presentes no equipamento ou nos tanques e recipientes de estocagem, provocando o aumento na taxa de oxidação. O número, a posição e a geometria das duplas ligações na molécula do ácido graxo afetam a taxa de oxidação, por exemplo, os isômeros *cis* são mais susceptíveis à oxidação do que os isômeros *trans*, e os não-conjugados mais reativos do que os conjugados.

Com relação à pressão de oxigênio, a taxa de oxidação dos óleos e gorduras é independente deste fator quando o fornecimento de oxigênio é ilimitado, entretanto, em baixa pressão, a taxa de oxidação é proporcional à pressão do oxigênio. Os efeitos da pressão do oxigênio são influenciados por outros fatores como a temperatura e a área superficial. A temperatura é também importante em relação aos efeitos da pressão parcial do oxigênio na taxa de oxidação. Com o aumento da temperatura, a taxa de concentração de oxigênio torna-se menos influente, pois, o oxigênio é menos solúvel em temperatura elevada. A taxa de oxidação aumenta de acordo com a área superficial onde o óleo ou a gordura são expostos, em contato com o ar. Quando a relação volume e superfície aumentam, reduzindo a pressão parcial do oxigênio, a taxa de oxidação se torna menor (NAWAR, 1996). Alimentos contendo óleos e gorduras sofrem um aumento na

deterioração durante o armazenamento em atmosfera com oxigênio, devido a uma série de reações químicas que podem ocorrer como a hidrólise dos triacilglicerídeos, resultando na liberação de ácidos graxos, mono e diglicerídeos; oxidação dos ácidos graxos portadores de duplas ligações gerando produtos como peróxidos e aldeídos; e polimerização, produzindo extensa condensação de monômeros de ácidos graxos poliinsaturados fortemente influenciados pela temperatura (HELLÍN; CLAUSELL, 1984). Óleos vegetais que possuem alto teor de ácidos graxos poliinsaturados formam hidroperóxidos durante estocagem. Na presença de oxigênio (O_2), há alterações do sabor do óleo, pela formação de produtos voláteis, devido à degradação de hidroperóxidos termolábeis em radicais alcóxil.

Altas temperaturas alteram significativamente a oxidação lipídica e acarretam diversas reações químicas complexas e, também, influenciam na velocidade de formação de compostos voláteis, a partir da decomposição de peróxidos (LAWSON, 1995). Os óleos de milho e soja, por exemplo, apresentam um comportamento instável quanto à formação de peróxidos, o que pode ser explicado pela decomposição rápida destes compostos em produtos secundários, quando aquecidos a temperaturas em torno de $100^\circ C$ (CUESTA; SÁNCHEZ-MUNIZ, 1998). Altas temperaturas, também podem gerar mudanças físico-químicas indesejáveis, pois, produtos da oxidação podem interagir com proteínas e hidratos de carbono, alterando a textura dos óleos (BELINATO, 2010). A estabilidade oxidativa de um óleo também depende do seu grau de insaturação. Óleos compostos por triglicerídeos formados por ácidos graxos, com alto número de duplas ligações, são mais susceptíveis à oxidação em relação àqueles com reduzido conteúdo de insaturações.

Dos óleos vegetais comestíveis, o de soja destaca-se como um dos mais susceptíveis ao processo de oxidação. O óleo de soja é especialmente propenso a mudanças oxidativas devido ao elevado conteúdo de ácido graxo insaturado em sua composição, apresenta de 8-9% de ácido linolênico, sendo altamente instável, enquanto o óleo de girassol, por exemplo, não possui ácido linolênico. A soja também possui uma enzima lipoxidase, denominada lipoxigenase, estimulante da rancidez de óleos. Nos grãos, o óleo geralmente está protegido contra a rancidez devido à compartimentalização de sua estrutura celular, mas, quando o grão é moído, no processo de formulação da ração, por exemplo, torna-o susceptível à rancidez, pois a lipoxigenase e o óleo são misturados, desencadeando a rancidez

rapidamente. O aquecimento da soja é um fator de redução da susceptibilidade do grão à rancidez devido à inatividade da lipoxidase.

2.2.4 Tipos de rancidez

A rancidez é causada por meio de duas vias principais: a hidrolítica e a oxidativa. A rancidez hidrolítica é muito comum durante o armazenamento de alimentos e resulta na formação dos ácidos graxos livres, pela reação do lipídeo com a água, sendo acelerada, na presença de um catalisador ou pela ação de enzimas como as lipases, ocorrendo geralmente, durante o armazenamento dos óleos.

O óleo vegetal também rancifica por reações de oxidação, as quais são iniciadas pelo ataque de espécies reativas de oxigênio (ERO) às duplas ligações dos ácidos graxos insaturados que compõem um lipídeo (CONEGLIAN et al., 2011). A rancidez oxidativa dos óleos é o resultado de uma reação em cadeia e pode ser dividida em três diferentes estágios: iniciação, propagação e terminação (Figura 3). De acordo com Belinato (2010), no óleo está presente o oxigênio (O_2) e através de catalisadores, como aquecimento, luz UV e substâncias presentes no óleo como um composto de nitrogênio, por exemplo, a reação se inicia quando as ERO se combinam com ácidos graxos insaturados (RH) do óleo, gerando radical livre ($R\cdot$) que, por sua vez, forma radical peroxil ($RO_2\cdot$) após inserção do O_2 . Em uma próxima etapa, a propagação, $RO_2\cdot$ reage com uma nova molécula do óleo formando hidroperóxido (RO_2H) e mais radical livre, que também vai formar juntamente com oxigênio, mais $RO_2\cdot$. Na terminação, o hidroperóxido se decompõe em dois novos radicais, alcóxil ($RO\cdot$) e hidroxil ($\cdot OH$), e ambos vão reagir com novas moléculas de óleo, na presença do oxigênio, resultando em composto hidroxilado (ROH), água e mais $RO_2\cdot$, dando continuidade à reação de oxidação.

O radical hidroxil é a espécie reativa do metabolismo do oxigênio mais reativo, pois, tem alto poder oxidante. A combinação extremamente rápida do $\cdot OH$ com metais ou outros radicais confirma sua alta reatividade, sendo responsável por iniciar a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados (lipoperoxidação), além de inativar várias proteínas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1986). Os radicais formados durante as reações também podem reagir entre si, gerando outros produtos como ácidos,

cadeias longas de hidrocarbonetos, aldeídos e cetonas, os quais não são reativos e a formação de odores da rancidez, indica que o processo de oxidação possa estar em sua fase final.

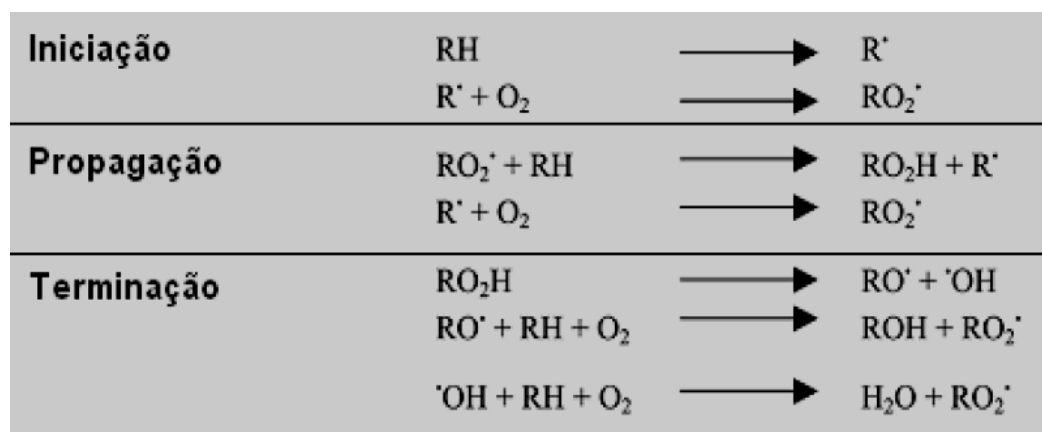


Figura 3 – Estágios do processo de oxidação.

Fonte: Belinato (2010).

No processo de oxidação, o oxigênio é adicionado ou o hidrogênio (elétrons) é removido. O componente que reduz e ganha elétrons é denominado oxidante. Em alimentos, o oxidante mais comum é o oxigênio, embora outras substâncias químicas adicionadas ou endógenas possam também servir como oxidante. Os óleos comestíveis, por conterem uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados são facilmente oxidados, pois, se destacam mais facilmente da fração lipídica. Embora a oxidação, em geral se inicie na fração lipídica, eventualmente outros componentes também são afetados, como proteínas, vitaminas e pigmentos. Geralmente, as reações de oxidação ocorrem lentamente à temperatura ambiente, mas acima de 100°C, esse processo é acelerado, principalmente, quando se tem um iniciador oxidativo presente como componentes oxidados, metais de transição (Figura 4) ou enzimas.

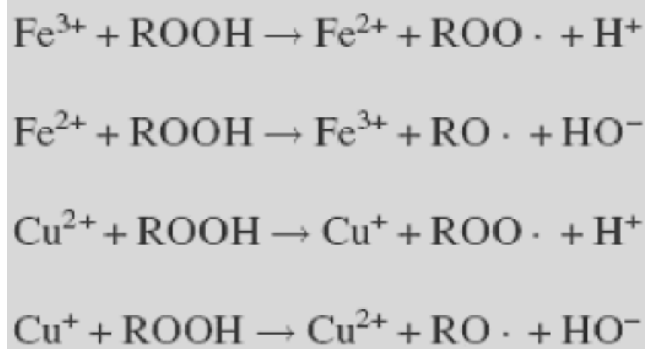


Figura 4 – Iniciação de oxidação na presença de ferro (Fe) e cobre (Cu).

Fonte: Citado por Belinato (2010), adaptado de Gatto et al. (2006).

2.2.5 Testes de mensuração de oxidação de óleos

A avaliação do estado de oxidação dos óleos é muito importante, pois ajuda a mensurar a rancidez. Segundo Souza (2007), há diferentes métodos analíticos que avaliam a qualidade dos óleos, como a determinação dos índices de iodo, peróxido e acidez. A determinação de acidez, por exemplo, indica uma decomposição dos triglicérides acelerada por aquecimento e luz e, também, o estado de conservação de um óleo. Mais recentemente, técnicas instrumentais como a espectroscopia, tem tornado as análises de avaliação da qualidade de óleos mais viáveis.

Neste trabalho foram usados os métodos de determinação do índice de peróxido e índice de acidez para a avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de soja adicionado em alimento concentrado animal (DROZDOWSKI; SZUKALSKA, 1987).

2.2.5.1 Índice de acidez

O índice de acidez fornece uma avaliação do estado de conservação dos óleos, determinando o teor de ácidos graxos livres provenientes de lipólises (Figura 5). Conforme o óleo oxida, ocorre a formação destes ácidos orgânicos, decorrendo o aumento do valor de pH.

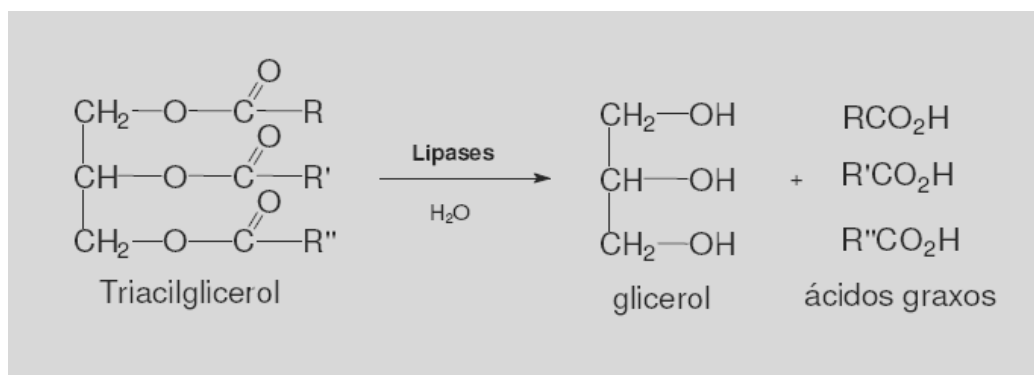


Figura 5 – Quebras na cadeia do triacilglicerol.

Fonte: Diaz et al., (2006); Jaeger e Eggert, (2002).

Um elevado índice de acidez indica, portanto, que o óleo está sofrendo quebras em sua cadeia, liberando seus constituintes principais que são os ácidos graxos. O índice de acidez corresponde à quantidade em miligramas de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos graxos livres, presentes em 1 g de gordura. Os ácidos graxos livres decorrem de hidrólises parciais, por isso, este índice não é uma constante, e sim, uma variável relacionada com a natureza e a qualidade da matéria-prima, a qualidade do grau de pureza do lipídeo, o processamento e, principalmente, com suas condições de conservação (SANTOS, 1998).

2.2.5.2 Índice de peróxido

O índice de peróxido é um dos testes mais usados para mensurar a rancidez oxidativa. Esta análise indica a concentração de peróxidos e hidroperóxidos formados no estágio inicial da oxidação dos lipídeos (SOUZA, 2007). De acordo com esse método, os peróxidos presentes no lipídeo oxidam o Fe^{2+} e o Fe^{3+} , sendo as leituras realizadas, espectrofotometricamente, em comprimento de onda de 500 nm, sob a forma de tiocianato férrico.

Em uma oxidação avançada, o valor de peróxido poderá ser menor e o baixo índice de peróxido na fase final de oxidação, deve coincidir com altas concentrações

de aldeídos, cetonas, alcoóis e ésteres, os quais devem aumentar a absorbância (CABEL et al.,1988).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi estudar os parâmetros de oxidação de óleo de soja, adicionado em alimentos concentrados para bovinos, armazenados por 15 dias, em termos das temperaturas de armazenagem de 25°C e 40°C, e da adição de dois tipos de óleo processados, refinado e degomado, em diferentes porcentagens (2 a 8%).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Os reagentes utilizados nos experimentos são de grau analítico e foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA).

4.2 Delineamento Experimental

Para a realização dos experimentos foi utilizado um alimento concentrado isoprotéico e isoenergético, com formulação descrita no item 4.3, adicionado ou não de óleo de soja. O estudo foi realizado em duas partes com o intuito de verificar: a) efeito da temperatura sobre a oxidação dos lipídeos contidos nos concentrados adicionados de óleo de soja refinado e b) efeito da classe de elaboração do óleo de soja, refinado e degomado, sobre a oxidação lipídica dos concentrados. Foram formados cinco grupos de alimentos baseados na adição de óleo de soja:

- Controle (C) constituído pelo concentrado sem adição de óleo;
- Tratamento 1 (T1) constituído pelo concentrado adicionado de 2% óleo de soja (refinado ou degomado);
- Tratamento 2 (T2) constituído pelo concentrado adicionado de 4% óleo de soja (refinado ou degomado);
- Tratamento 3 (T3) constituído pelo concentrado adicionado de 6% óleo de soja (refinado ou degomado),
- Tratamento 4 (T4) constituído pelo concentrado adicionado de 8% óleo de soja (refinado ou degomado).

As amostras foram analisadas durante os dias 1, 3, 5, 7, 11, 13 e 15 de estocagem em termos de umidade, pH, acidez etanol-solúvel e oxidação lipídica por meio do índice de peróxidos e índice de acidez. A análise bromatológica de

composição centesimal da amostra foi realizada apenas uma vez, no primeiro dia de experimento. Essas análises foram feitas por um período de 15 dias, mimetizando as condições normais encontradas na armazenagem de concentrados em uma propriedade rural.

4.3 Formulação do concentrado

O concentrado foi composto de milho em grão moído, farelo de soja, uréia e núcleo mineral, e sua composição percentual, na matéria seca, encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição percentual do concentrado.

Ingredientes	%
Milho em grão moído	64
Farelo de soja	32
Uréia	2
Núcleo mineral	2

Os concentrados foram elaborados em um misturador tipo “Y” por 15 minutos, sendo posteriormente ensacados em sacos de rafia, de maneira similar ao processo industrial tradicional. Após o processo de mistura e ensaque, foram colhidas 10 amostras de 100 gramas por saco de rafia de 50 quilogramas, sendo posteriormente feito um “pool” dessas amostras e conduzidas ao local de condicionamentos das mesmas.

4.4 Acondicionamento das amostras dos concentrados durante o período experimental

As amostras dos concentrados, adicionados ou não de óleo de soja, foram acondicionadas em estufa com controle de temperatura sob 25°C e 40°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). A umidade relativa ficou em torno de 30%. Em dias alternados, foram retirados 0,01 kg de cada tratamento para as análises de umidade, pH, acidez etanol-solúvel e oxidação lipídica em termos de índice de peróxidos e índice de acidez.

4.5 Composição centesimal do concentrado

Foram realizadas análises bromatológicas para composição centesimal do concentrado para Matéria Seca (MS); Proteína Bruta (PB); Fibra Bruta (FB); Fibra Detergente Neutro (FDN), Cinzas (C) e Extrato Etéreo (EE).

4.5.1 Determinação da matéria seca e umidade

A matéria seca e umidade foram determinadas de acordo com a metodologia (012/IV) segundo as Normas Analíticas do IAL, 1985.

Para a determinação da matéria seca, 5 g da amostra foram colocadas em um béquer previamente seco a 105°C por 1 hora e com massa conhecida. A amostra foi colocada em estufa a 105°C por 6 horas, em seguida, mantida em dessecador até atingir a temperatura ambiente e novamente sua massa foi registrada.

Os cálculos foram realizados em acordo com a expressão:

$$\text{Matéria Seca (g)} = m_{AB} - m_B$$

Onde:

m_{AB} = massa do béquer com a amostra seca (g)

m_B = massa do béquer (g)

Com base neste procedimento, calculou-se também a porcentagem de umidade da amostra.

$$\% \textit{ Umidade} = \frac{100 \times m_P}{m_I}$$

Onde:

m_P = massa perdida pela amostra durante o experimento (g)

m_I = massa inicial da amostra (g)

4.5.2 Determinação de proteína por KJELDAHL

O teor da proteína foi determinado, baseado no conteúdo de nitrogênio total, pela técnica de micro-Kjeldahl (AOAC, 1990).

Neste procedimento, foram utilizados 100 mg da amostra finamente homogeinizada e 0,5 g da mistura catalisadora (sulfato de sódio anidro contendo 5% de sulfato de cobre pentaidratado). Para a digestão da amostra, o conteúdo foi colocado em um tubo de semi-micro Kjeldahl de 100 mL, adicionou-se 2 mL de H_2SO_4 concentrado e este foi mantido em bloco digestor por 50 minutos a $400^\circ C$ ou até o aparecimento da coloração verde claro translúcido. Durante este processo ocorreu a formação de sulfato de amônio.

Antes de ser destilada, a amostra digerida foi tratada com hidróxido de sódio 40%, o conteúdo foi aquecido até ebulição e destilado até 2/3 do volume.

Para coletar a amônia liberada durante o processo de destilação foram adicionados em um erlenmeyer 20 mL de ácido bórico 4%, 4 gotas de vermelho de metila, 6 gotas de verde de bromocresol e água destilada até um volume final de 50 mL. O erlenmeyer foi acoplado ao destilador, de modo que a ponteira ficou submersa ao líquido. Neste processo foi formado o borato de amônio.

A solução destilada foi transferida para um erlenmeyer e o borato de amônio titulado com uma solução de HCl 0,01N padronizada.

Os cálculos foram realizados em acordo com a expressão:

$$\% NT = \frac{(Va - Vb) \times N \times F \times 0,014 \times 100}{m_A}$$

Onde:

NT = Nitrogênio total na amostra (%)

Va = volume de HCl gasto na titulação da amostra (mL)

Vb = volume de HCl gasto na titulação do branco (mL)

N = Normalidade do HCl (0,01N)

F = fator de correção do HCl (Normalidade do HCl padronizada/0,01)

m_A = massa da amostra (g)

O valor de nitrogênio total foi convertido em proteína bruta, utilizando o fator de conversão de 6,25, convencionalmente empregado em amostras de alimentos para animais, como plantas forrageiras, rações concentradas, dentre outros (GALVANI; GAERTNER, 2006).

$$\% PB = NT \times FCN$$

Onde:

PB = Proteína Bruta (%)

FCN = fator de correção de N para a proteína (6,25)

4.5.3 Cinzas (C)

A porcentagem de cinzas foi determinada de acordo com método 08-01 da AOAC (1995).

Foram pesados 5g da amostra em um cadinho já calcinado em mufla a 550°C por 1 hora, esfriado em dessecador por 30 minutos e com massa conhecida. O cadinho foi levado até a chapa de aquecimento e a amostra foi queimada

completamente. Em seguida, o cadinho foi transferido para a mufla a 550°C por seis horas. O recipiente foi retirado, mantido em dessecador por 30 minutos e pesado. Esta operação foi repetida até o peso apresentar-se constante e as cinzas apresentarem coloração branca.

$$\%Cinzas = \frac{(m_{CC} - m_C) \times 100}{m_A}$$

Onde:

m_{CC} = massa do cadinho com cinzas (g)

m_C = massa do cadinho (g)

m_A = massa da amostra (g)

4.6 Determinação do pH dos concentrados

A acidez do concentrado foi determinada em medidor de pH, após o tratamento da amostra com água (IAL, 1985). Em um béquer, foram adicionados 5 g da amostra, diluídos em 50 mL de água deionizada e o conteúdo mantido sob agitação constante, por 30 minutos, em agitador magnético. Após este período, aguardou-se 10 minutos para a sedimentação das partículas e, então, o sobrenadante foi transferido para outro béquer. O pH foi determinado usando pHmetro (Fisher Scientific) previamente calibrado, em acordo com as instruções do manual do fabricante.

4.7 Determinação da acidez (solúvel em etanol 95%) dos concentrados

A quantificação dos ácidos solúveis em etanol presentes no concentrado foi realizada por titulação, segundo a metodologia (415/IV) de acordo com as Normas Analíticas do IAL (1985).

Neste procedimento, 1,25 g da amostra foi transferida para um erlenmeyer com tampa, adicionou-se 25 mL de etanol 95%, agitou-se o frasco algumas vezes.

Após 24 horas, 20 mL do sobrenadante foram transferidos para outro erlenmeyer e adicionou-se 3 gotas de fenolftaleína. A solução foi titulada com uma solução de hidróxido de sódio 0,01 M padronizada até coloração rósea persistente. Uma prova em branco, usando 20 mL de etanol, foi realizada para controle.

Os cálculos foram efetuados seguindo a expressão:

$$\% \text{ Acidez em solução molar (v/m)} = \frac{(V \times F \times 100)}{m_A \times c}$$

Onde:

V = volume solução de hidróxido de sódio 0,01 M usado na titulação (mL)

F = fator de correção do NaOH 0,01 M (Normalidade do NaOH padronizada/0,01)

m_A = massa da amostra usada no ensaio (g)

c = correção 1 para solução de NaOH 1 M, 10 para solução NaOH 0,1 M e 100 para solução de NaOH 0,01 M.

4.8 Determinação dos índices de peróxido e acidez dos lipídeos extraídos dos concentrados

Para a determinação dos índices de peróxidos e acidez dos lipídeos presentes nos concentrados, primeiramente, foi realizada a extração lipídica pelo método de Bligh e Dyer (1985). Esse método de extração de lipídeos é realizado com solvente a frio utilizando-se a mistura de três solventes, clorofórmio-metanol-água. A amostra é misturada com o metanol e clorofórmio, que estão numa proporção que formam uma só fase com a amostra e adicionando-se mais clorofórmio e água, promove a formação de duas fases distintas, uma de clorofórmio, contendo lipídeos, e outra metanol mais água, contendo substâncias não lipídicas. A fase do clorofórmio com a gordura é isolada e, após a evaporação do clorofórmio, obtém-se a quantidade de gordura por pesagem.

Foram adicionados em 7 g de amostra, em capela, 20 mL de clorofórmio, 40 mL de metanol e 16 mL de água destilada. O frasco foi hermeticamente fechado e agitou-se por 30 minutos em agitador orbital a 100 rpm. Na sequência, mais 20 mL de clorofórmio e 20 mL de solução de Na₂SO₄ (1,5%) foram adicionados, agitando-se o frasco por mais 2 minutos. O conteúdo do frasco foi transferido para um funil de separação e após a formação das duas fases (orgânica e aquosa), a camada inferior contendo clorofórmio e lipídeo foi transferida para um tubo contendo 2 g de Na₂SO₄ anidro para remoção de traços de água. O conteúdo foi filtrado em papel de filtro qualitativo. O filtrado foi, então, utilizado para determinar os índices de peróxidos e de acidez. Estes parâmetros foram expressos baseados na massa (kg) do concentrado, tendo como base de cálculo, a porcentagem de lipídeos totais encontrada no concentrado.

Para determinação da porcentagem de lipídeos da amostra, 5 mL do filtrado foi colocado em béquer previamente seco a 105°C, por 2 horas, com massa conhecida. Na sequência, o béquer foi mantido em estufa, a 105°C, até a completa evaporação do solvente (15-20 minutos), em seguida, esfriado em dessecador até a temperatura ambiente, onde sua massa foi registrada.

Calculou-se a porcentagem de lipídeos de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ Lipídeos totais} = \left[\left(\frac{m_L \times 8}{m_A} \right) \right] \times 100$$

Onde,

m_L = massa de lipídeo presente em 5 mL (g)

m_A = massa da amostra (g)

4.8.1 Determinação do índice de acidez

O índice de acidez dos lipídeos extraídos de cada concentrado foi determinado pelo método de titulação com hidróxido de sódio (IAL, 1985). Neste procedimento, o índice de acidez é definido como o número de miligramas de hidróxido de sódio

necessário para neutralizar um grama de óleo da amostra. Em um erlenmeyer, contendo 10 mL do filtrado obtido da extração da amostra pelo método de Bligh e Dyer, adicionou-se 20 mL de solução de éter-etanol (2:1) e duas gotas do indicador fenolftaleína. Titulou-se com solução padronizada de hidróxido de sódio 0,01 M, até o aparecimento da coloração rósea persistente. A padronização do hidróxido de sódio foi realizada utilizando o biftalato de sódio. O índice de acidez foi calculado pela equação abaixo:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{(V_A - V_{Br}) \times NR \times 5,61}{m_A}$$

Onde:

V_A = volume da solução de NaOH usado na titulação da amostra (mL)

V_{Br} = Volume da solução de NaOH usado na titulação do branco (mL)

NR = Normalidade Real do hidróxido de sódio

m_A = massa da amostra presente na alíquota titulada (g)

5,61 = Equivalente grama do KOH

4.8.2 Determinação do índice de peróxido

O conteúdo de peróxido dos lipídeos extraídos de cada concentrado foi determinado de acordo com Shantha e Decker (1994).

Foi transferido 1 mL da amostra, extraída pelo método de Bligh e Dyer (1959), em capela, para um tubo de ensaio com tampa. Adicionou-se 1 mL da solução de Ferro(II)/Tiocianato de amônio, preparada de acordo com as soluções apresentadas a seguir:

Solução Ferro II- Estoque ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,0357 M, $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,0327 M, Ácido Clorídrico 10 M: 500 μL)

Solução Clorofórmio/ Metanol (7:3): 49 mL.

Solução Tiocianato de Amônio 3,94 M: 500 μL

Um tubo branco foi realizado substituindo a amostra por 1 mL da solução Clorofórmio/Metanol 7:3. Homogeneizou-se e após 5 minutos, as absorvâncias das amostras foram determinadas a 500 nm, zerando o espectrofotômetro com o branco. Para construção da curva padrão foram utilizadas concentrações de cloreto de ferro (III) de 0 a 20 µg/mL.

Os cálculos foram efetuados seguindo a expressão:

$$mEq \text{ peróxido} / Kg \text{ de amostra} = \frac{Abs_A}{55,84 \times S \times m_A \times 2}$$

Onde:

Abs_A = absorvância da amostra

s = slope obtido na curva padrão

m_A = massa da amostra (g)

55,84 = peso atômico do Fe

2 = fator para converter miliequivalente de Fe para miliequivalente de peróxido

4.9 Expressão dos resultados e análises estatísticas

Para todos os resultados obtidos neste trabalho, a comparação entre grupos foi realizada utilizando-se análises de variância (ANOVA), com nível de significância de 5% de probabilidade. Para as diferenças significativas em comparações entre médias, foi usado o teste Tukey, através do programa MINITAB[®], sendo os dados expressos em média e desvio padrão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do concentrado

Os resultados obtidos da análise centesimal do concentrado e de seus valores de pH e acidez titulável estão apresentados na Tabela 3. O concentrado controle utilizado neste experimento apresentou valores de 90,3% de matéria seca (MS) e desta matéria seca foram encontrados 19,3% de proteína bruta (PB), 5,2% de fibra bruta (FB), 13,2% de fibra detergente neutro (FDN), 3,7% de cinzas (C) e extrato etéreo (EE) 2,7%. Estes valores foram comuns para todos os concentrados adicionados de óleo de soja, com exceção do extrato etéreo que apresentou 4,5%, 5,3%, 7,2% e 10,1% para os respectivos T1, T2, T3 e T4.

Neste trabalho, utilizou-se um concentrado protéico de origem vegetal condizente com um elevado teor de PB (> 18%) encontrado em sua composição. Também é um alimento de alto valor energético, principalmente pela adição de óleo de soja, um óleo vegetal que pode constituir uma excelente fonte de suplementação energética para os animais (STRICKLER, 1991).

Em relação ao pH e acidez titulável dos concentrados, não houve diferença significativa entre os valores obtidos do controle e adicionados de óleo de soja. Estes resultados mostram que a adição de óleo, não alterou o pH e a porcentagem de acidez do concentrado. A acidez do concentrado representa o conteúdo hidrogênioônico que este disponibiliza para o meio aquoso, representado pelos valores de pH. E, a acidez titulável, indica o conteúdo total dos ácidos solúveis em etanol, sendo estes ácidos fortes ou fracos, presentes no concentrado. Estes ácidos podem ser ácidos graxos de cadeia curta ou outros ácidos inorgânicos, presentes no alimento.

O valor médio de pH para o concentrado formulado para este experimento, foi de 6,39 e a porcentagem de acidez 2,94%. Na literatura, existem trabalhos que determinam o pH e a acidez titulável em diferentes alimentos, tanto relacionados com a dieta animal como a humana. Vivian (2009) determinou o pH de ração pré-inicial de leitões, contendo silagem de grão úmido de milho, observou que houve um

ligeiro aumento no valor de pH para 5,87 quando o alimento foi armazenado por 192 horas, em relação ao tempo zero (pH 5,38). Segundo o mesmo autor, valores mais baixos de pH nas rações são importantes e de interesse porque podem representar uma melhora do pH no aparelho gastro-intestinal dos animais e, assim, melhorar a digestibilidade e o aproveitamento dos nutrientes fornecidos na dieta. Também, Silva et al. (2000) encontraram valores de pH das rações, à base de fosfato bicálcico e farinha de carne e ossos, de 6,27. Segundo Trombini (2010), ao avaliar produtos extrusados obtidos a partir de misturas de farelo e fécula de mandioca com farinha de soja, encontrou valores de pH e acidez titulável de 5,38 e 1,36% para fécula, 5,19 e 12,17% para farelo e 6,95 e 3,20% para farinha de soja, respectivamente. Ainda, Menegassi e Leonel (2005) encontraram na farinha de trigo um pH de 6,11 e acidez titulável de 3,21%, enquanto na farinha de mandioquinha-salsa, pH de 6,04 e 7,31% de acidez titulável. De acordo com a legislação de ANVISA (2000), a acidez de alimentos com base em farinhas, não deve ultrapassar 5%.

Tabela 3 – Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), cinzas, extrato etéreo (EE), pH e acidez titulável avaliados nos concentrados controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado em 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4).

	C	T1	T2	T3	T4
MS	90,3±5,1	-	-	-	-
PB	19,3±1,5	-	-	-	-
FB	5,2±2,5	-	-	-	-
FDN	13,2±1,3	-	-	-	-
Cinzas	3,7±1,0	-	-	-	-
EE	2,7±0,7	4,5 ± 0,9	6,3 ± 0,9	8,2 ± 1,3	10,1 ± 1,2
pH	6,38±0,03 ^a	6,40± 0,01 ^a	6,41± 0,01 ^a	6,40± 0,01 ^a	6,40± 0,01 ^a
Acidez titulável	2,95±0,07 ^a	2,95± 0,07 ^a	2,95± 0,07 ^a	2,95± 0,07 ^a	2,90± 0,00 ^a

Valores expressos como média e desvio padrão de 3 experimentos realizados em duplicata. Valores de PB, FB, FDN, EE estão expressos em porcentagem da matéria seca (MS). Acidez titulável está expressa em %(v/p). Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa.

A inclusão de óleo suplementar nas rações de bovinos tem sido prática comum na alimentação, principalmente, para melhorar o *status* energético dos animais, e, conseqüentemente, o desempenho produtivo e reprodutivo (GRUMMER, 2004). As rações de ruminantes contêm, em média, de 2,5 a 3,0% de extrato etéreo,

e devem ser consideradas a quantidade e a fonte dos lipídeos para serem adicionados no alimento sem que haja alterações no padrão da fermentação ruminal e efeitos indesejáveis (D'ANGELO, 2009). Os lipídeos têm 2,25 vezes mais conteúdo energético que os carboidratos, por isso, são utilizados para aumentar a densidade energética das dietas (REDDY; MORRIL; NAGARAJA, 1994; SIMAS, 1998).

Vários trabalhos foram realizados com a adição de óleo de soja em dietas de ruminantes para a avaliação do desempenho zootécnico dos animais. Vargas, Lana e Jham (2002) avaliaram a suplementação de 4,6% de óleo de soja na matéria seca total em dietas a base de silagem em vacas leiteiras e encontraram alterações na fermentação ruminal. Santos et al. (2009), avaliaram a inclusão de 8% de óleo de soja da matéria seca total em rações de vacas e não observaram reduções no consumo do alimento pelos animais.

Segundo Lin et al. (1995), o uso de óleo em rações para ruminantes pode inibir a produção de metano, reduzir a concentração de amônia ruminal, aumentar a eficiência da síntese microbiana e aumentar o ácido linoléico no leite. Contudo, como efeitos indesejáveis, o óleo pode reduzir a digestibilidade da matéria seca e reduzir a relação acetato:propionato, com conseqüente diminuição da gordura do leite. Palmquist e Jenkins (1980) relatam que níveis elevados de lipídeos podem reduzir o consumo e a digestibilidade e, deste modo, as concentrações de extrato etéreo na matéria seca da dieta de ruminantes, não deve ser superior a 7%.

5.2 Influência da temperatura de estocagem na oxidação lipídica dos concentrados adicionados de óleo de soja refinado

Os resultados da oxidação lipídica dos concentrados controle (C) e dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 estocados nas temperaturas de 25°C e 40°C, verificada por meio da determinação do índice de peróxido no óleo extraído, estão apresentados na Gráfico1.

A adição de óleo de soja refinado no concentrado formulado para este experimento, não alterou os valores de índice de peróxido ao longo do período experimental, a 25°C e 40°C. Na temperatura de 25°C, o valor de índice de peróxido, $0,60 \pm 0,02$ mEq de peróxido/kg de concentrado seco, foi mantido até o 7º dia de

experimento, e após este período, este valor foi reduzido em relação ao 1º dia, atingindo níveis de $0,13 \pm 0,01$ mEq de peróxido/kg de concentrado no 15º dia de experimento. Entretanto, os concentrados acondicionados a 40°C apresentaram no 5º dia de experimento, aumento de 54% do índice de peróxido, em relação ao primeiro dia, sendo este aumento mantido até o final dos 15 dias.

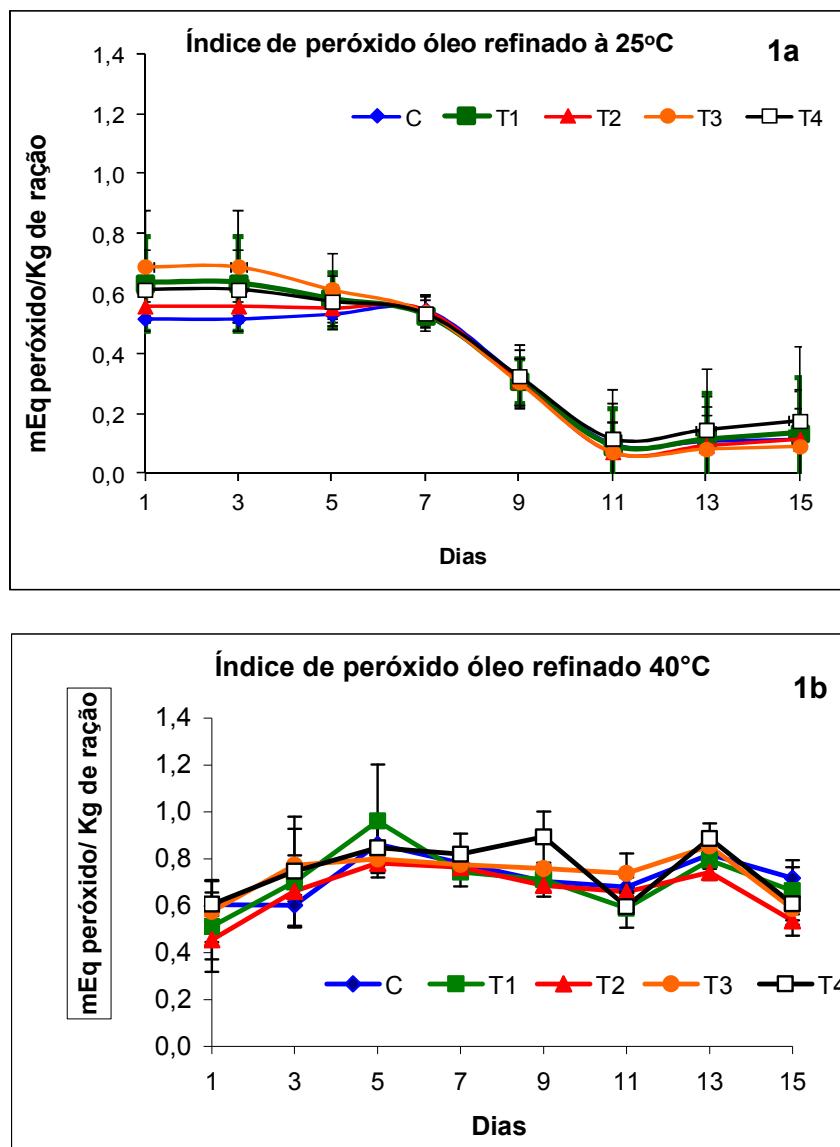


Gráfico 1 - Influência da temperatura de armazenamento sobre o índice de peróxido no concentrado controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4): (a) 25°C e (b) 40°C. Resultados expressos como média e desvio padrão de 4 experimentos realizados em duplicata.

Na evolução oxidativa de lipídeos, primeiramente, ocorre o desaparecimento dos substratos de oxidação, o oxigênio e o lipídeo insaturado; em seguida ocorre o aparecimento dos produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) e, finalmente, o aparecimento dos produtos secundários de oxidação, obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos, como epóxidos, compostos voláteis e não voláteis (BERSET; CUVELIER, 1996). Segundo Silva, Borges e Ferreira (1999), o índice de peróxido é um parâmetro de oxidação que representa a diferença entre a formação e a decomposição dos peróxidos, constituída por uma análise de produtos primários de oxidação. Assim, os resultados obtidos neste estudo, sugerem que a temperatura de estocagem do concentrado foi importante para os peróxidos, seja para sua formação ou decomposição.

Estudos mostram que peróxidos são rapidamente decompostos em aldeídos, cetonas, alcoóis, hidrocarbonetos, ésteres, furanos e lactonas, acarretando na perda da qualidade de óleos e gorduras presentes em alimentos, mesmo sob temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (EYS; OFFNER; BACH, 2004; O'BRIEN, 2004). Hou e Chang (2004), afirmaram que o aroma e o sabor desagradáveis apresentam-se em derivados de soja, atribuídos à peroxidação de lipídeos. A oxidação lipídica nos alimentos acarreta alterações no valor nutricional, na funcionalidade e também na integridade e segurança do produto, por meio da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999; NAZ et al., 2004; RAMALHO e JORGE, 2006).

A oxidação é um fenômeno autocatalítico que se desenvolve em crescente aceleração quando iniciada, e o que indica a fase final deste processo, comumente, é a formação de odores de rancidez, onde são encontrados baixos valores de índices de peróxidos e altas concentrações de produtos secundários como aldeídos, cetonas, alcoóis e ésteres. Tradicionalmente, os valores de índice de peróxidos em alimentos costumam girar em torno de 0 a 20 mEq/kg (ANVISA, 2000).

No presente estudo, o valor máximo de índice de peróxido encontrado no experimento a 40°C foi em torno de 0,9 mEq/kg de concentrado, sendo este valor equivalente a 18 mEq/kg de óleo extraído do concentrado. Entretanto, não há relatos dos níveis de peróxidos relacionados à qualidade do alimento concentrado para bovino. Estudos em outros alimentos mostram divergência quanto ao conteúdo de peróxido e a qualidade destes, além disso, a maioria dos estudos é realizada visando à nutrição humana. Outro ponto relevante é que os resultados de estudos, relacionados à nutrição humana, expressam o conteúdo de peróxido por quilograma de óleo extraído, já nos trabalhos com interesse em nutrição animal, os resultados são expressos em massa de alimento.

Segundo Lopes et al. (2009), ao analisar a estabilidade oxidativa do farelo de castanha de caju em diversos períodos, encontraram uma variação do índice de peróxido no decorrer do tempo com o maior valor, 2,26 mEq/kg de óleo, aos 35 dias de armazenamento. Este valor encontrado foi inferior aos relatados na literatura (LOPES et al., 2009). De acordo com Silva, Peixoto e Peixoto (1990), o valor máximo de peroxidação no farelo de arroz armazenado por 11 meses foi de 113,00 mEq/kg de óleo, enquanto Racanicci, Menten e Iafigliola (2000) encontraram na farinha de carne e ossos armazenada por 10 semanas, um índice de peróxido de 69,23 mEq/kg de óleo. Fischer, Bermudez e Siqueira (2005) relataram um valor de 10,00 mEq/kg de óleo com 4 semanas de armazenamento de milho triturado. Esta diminuição é devida à proteção dos antioxidantes presentes na matéria prima, que agem contra a rancificação ao longo do período de armazenamento (FISCHER; BERMUDEZ; SIQUEIRA, 2005). Estes autores apresentaram seus resultados do índice de peróxido por quilograma de óleo extraído.

Vários problemas de desempenho zootécnico podem surgir com o fornecimento de uma alimentação oxidada aos animais criados comercialmente. Um estudo com frangos de corte, realizado por Cabel et al. (1988) na Universidade de Arkansas, utilizou gordura fresca e oxidada de aves em diferentes níveis, adicionadas na dieta animal. O peso final e conversão alimentar (CA) foram significativamente prejudicados pela inclusão da gordura oxidada na dieta fornecida aos animais, verificando-se que no nível final de peróxidos na ração, de 0 mEq/kg, foram encontrados um peso vivo de 1,635 kg e CA de 2,09, enquanto que com 7 mEq/kg foram encontrados 1,532 kg de peso vivo e CA de 2,19. Em nutrição de

aves, o uso de gorduras com valores de peróxidos superiores a 5 mEq/Kg de amostra, demonstrou efeitos negativos no ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e mortalidade dos animais (CABEL et al., 1988; INOUE et al., 1984; ROBEY; SHERMER, 1994), principalmente pela perda de energia destes ingredientes, associado a compostos tóxicos que prejudicam o consumo e aproveitamento dos nutrientes.

A palatabilidade das rações é outro fator muito importante para o desempenho dos animais e a presença de substâncias formadas durante o processo oxidativo causa odor e sabor desagradáveis aos alimentos, depreciando o consumo pelos animais (RACANICCI; MENTEN; REGITANO-D'ARCE, 2004). Segundo Lopes et al. (2009), quando se adicionou 15% de farelo de castanha de caju nas rações experimentais, o nível de peróxidos variou de 0,254 a 0,338 mEq/kg de ração, demonstrando não haver diferença significativa no consumo dessa ração entre aves e, conseqüentemente, na palatabilidade. Lin, Asghar e Gray (1989) e Engberg et al. (1996) encontraram índices de peroxidação de 22 e 17 mEq/kg de ração, respectivamente, em rações oxidadas e também não observaram alterações no consumo de frangos de corte. Em contrapartida, Wang, Castanon e Parsons (1997) verificaram que o fornecimento de rações para frangos contendo óleo em avançada peroxidação, com índices ≥ 11 mEq/kg de ração, fez reduzir o consumo quando comparado aos animais que receberam rações com índice de peroxidação $\leq 0,8$ mEq/ kg de ração.

Em termos do índice de acidez no Gráfico 2 estão apresentados os resultados obtidos dos concentrados controle (C) e dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 estocados a 25°C e 40°C.

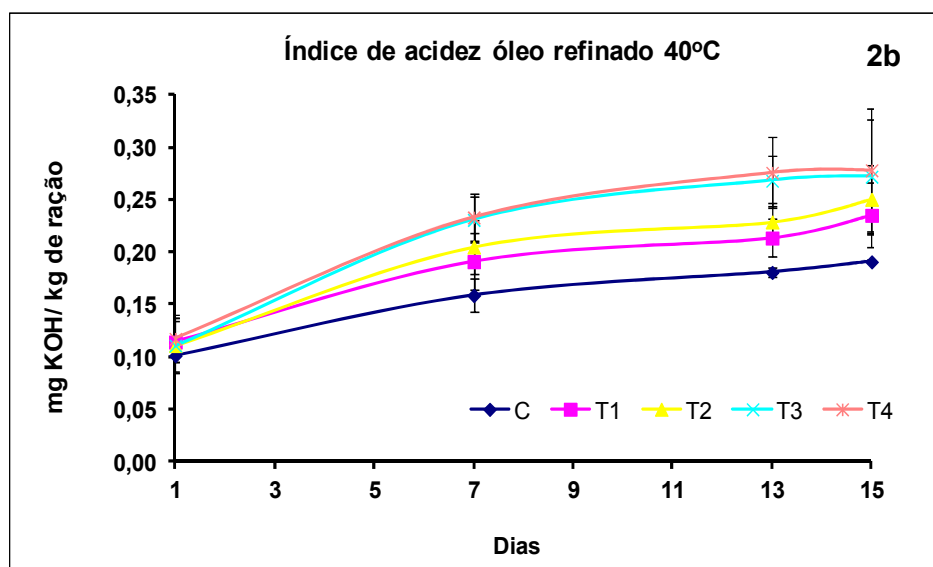
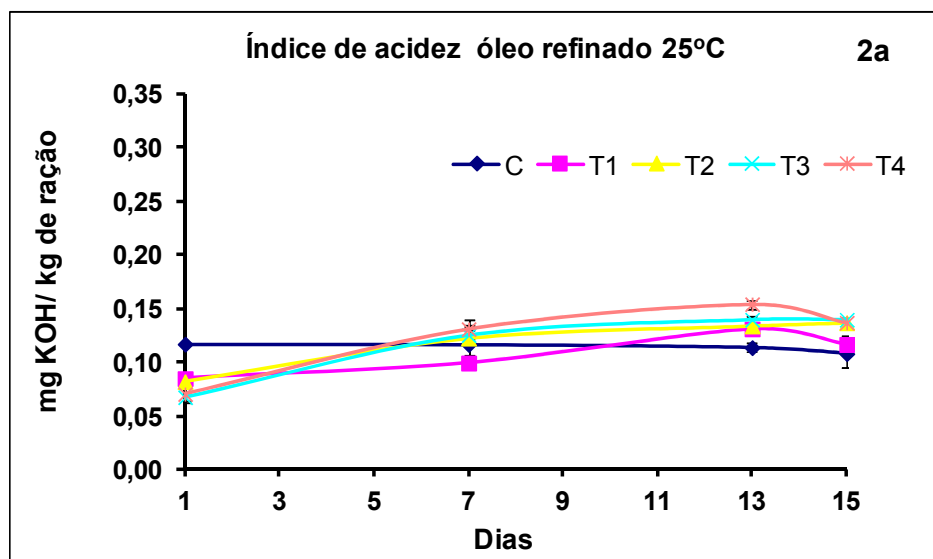


Gráfico 2 - Influência da temperatura de armazenamento sobre o índice de acidez no concentrado controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4): (a) 25°C e (b) 40°C. Resultados expressos como média e desvio padrão de 4 experimentos realizados em duplicata.

O índice de acidez do óleo extraído dos concentrados armazenados a 25°C não foi alterado ao longo do período experimental, em relação ao 1º dia; assim como, a adição de óleo de soja, não alterou este parâmetro, em relação ao concentrado controle. Porém, a temperatura de 40°C para armazenamento dos concentrados refletiu num aumento nos valores de índice de acidez para todos os tratamentos em 60%, 73%, 80%, 109% e 92% para C, T1, T2, T3 e T4, respectivamente, no 7º dia em relação ao 1º dia de experimento; sendo este efeito similar entre os dias 7, 13 e 15. Adição de óleo de soja no concentrado controle, armazenado a 40°C, resultou em aumento do índice de acidez sendo 19%, 25%, 44%, 44% para os respectivos T1, T2, T3 e T4 em relação ao controle e este aumento foi similar entre os próximos dias de experimento para cada tratamento.

Segundo Lopes et al. (2009), o ataque de fungos e bactérias leva a um processo chamado lipólise, resultando em aumento da concentração de ácidos graxos livres nos alimentos e, conseqüentemente, em maior índice de acidez. A acidez tende a aumentar de forma gradativa com a multiplicação desses microrganismos, principalmente pelas temperaturas ótimas de crescimento aproximadas de 40°C, observado neste trabalho com 15 dias de armazenamento. De acordo com Engberg et al. (1996), a condição de temperatura submetida o alimento durante a oxidação, faz com que haja a formação de uma grande variedade de compostos, de ranço, quimicamente diferentes. Muitos destes compostos apresentam efeitos tóxicos após sua ingestão, provocando danos às células epiteliais do intestino e fígado, prejudicando a absorção e o aproveitamento do óleo na dieta. Os efeitos negativos do fornecimento do óleo oxidado na dieta sobre o desempenho de animais criados comercialmente pode ser atribuído à presença dos produtos da oxidação, que levam a valores reduzidos de energia da dieta pelo decréscimo do valor biológico do ingrediente oxidado (LIN; ASGHAR; GRAY, 1989).

Os concentrados armazenados a 40°C tiveram os índices de peróxido e de acidez aumentados, ao contrário dos observados a 25°C, os quais não apresentaram aumento destes índices, indesejáveis no alimento. Entretanto, para determinar se a alteração oxidativa encontrada nas condições deste experimento influenciaria nos parâmetros zootécnicos, seria necessário o fornecimento destes alimentos aos animais.

5.3 Influência do tipo de óleo processado na oxidação lipídica dos concentrados armazenados a 40°C

Sabendo-se que a acidez é um fator importante para estabilidade dos alimentos acompanhou-se, primeiramente, os valores de pH e acidez titulável no concentrado controle e adicionados de óleo de soja refinado e degomado ao longo do período experimental. Os resultados mostraram que os valores de pH (Tabela 4) e acidez titulável (Tabela 5) não foram afetados pelo armazenamento dos concentrados.

Tabela 4 - Valores de pH (média \pm desvio padrão, n=3) dos concentrados controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado ou degomado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4) obtidos no 1° e 15° dia de experimento.

	pH do Concentrado			
	Com adição de óleo refinado		Com adição de óleo degomado	
	1° dia	15° dia	1° dia	15° dia
C	6,38 \pm 0,03 ^a	6,41 \pm 0,04 ^a	6,38 \pm 0,03 ^a	6,41 \pm 0,00 ^a
T1	6,40 \pm 0,01 ^a	6,39 \pm 0,00 ^a	6,36 \pm 0,04 ^a	6,36 \pm 0,00 ^a
T2	6,41 \pm 0,01 ^a	6,37 \pm 0,03 ^a	6,28 \pm 0,00 ^a	6,36 \pm 0,00 ^a
T3	6,40 \pm 0,01 ^a	6,41 \pm 0,01 ^a	6,30 \pm 0,00 ^a	6,33 \pm 0,00 ^a
T4	6,40 \pm 0,01 ^a	6,36 \pm 0,03 ^a	6,37 \pm 0,01 ^a	6,39 \pm 0,00 ^a

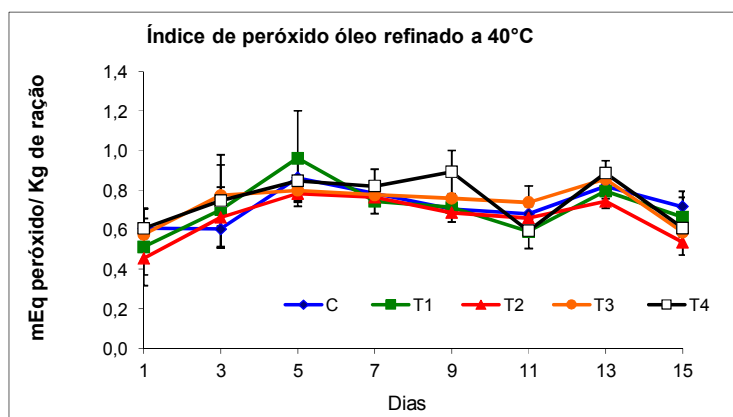
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5 - Porcentagem de acidez (v/p) dos concentrados controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado ou degomado T1, T2, T3 e T4 obtidos no 1° e 15° dia de experimento.

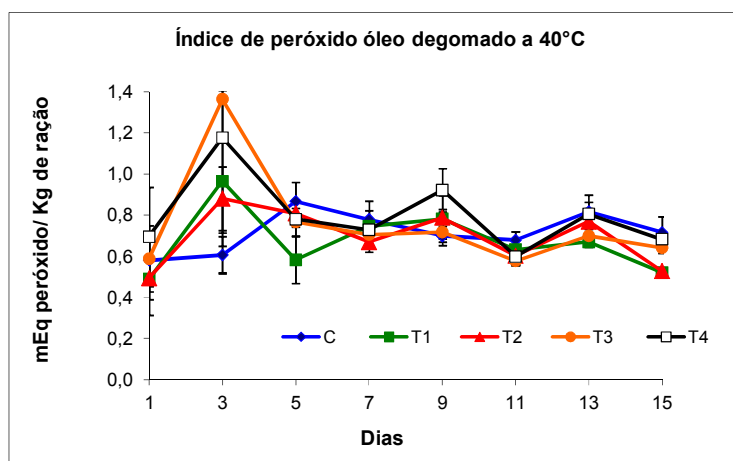
	Acidez do Concentrado			
	Com adição de óleo refinado		Com adição de óleo degomado	
	1° dia	15° dia	1° dia	15° dia
C	2,95 \pm 0,07 ^a	3,25 \pm 0,07 ^a	2,95 \pm 0,07 ^a	3,25 \pm 0,07 ^a
T1	2,95 \pm 0,07 ^a	3,10 \pm 0,14 ^a	3,30 \pm 0,14 ^a	3,55 \pm 0,07 ^a
T2	2,95 \pm 0,07 ^a	3,60 \pm 0,14 ^a	3,40 \pm 0,00 ^a	3,70 \pm 0,14 ^a
T3	2,95 \pm 0,07 ^a	3,65 \pm 0,07 ^a	3,30 \pm 0,00 ^a	3,85 \pm 0,07 ^a
T4	2,90 \pm 0,00 ^a	3,55 \pm 0,07 ^a	3,25 \pm 0,07 ^a	4,30 \pm 0,14 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Resultados foram expressos como média e desvio padrão (n= 4).

Em termos da estabilidade oxidativa foram avaliados os índices de peróxido e de acidez no óleo extraído do concentrado em estudo. Os resultados do índice de peróxido determinado nos concentrados controle (C) e nos tratamentos T1, T2, T3 e T4 adicionados de óleo de soja refinado ou degomado, encontram-se no Gráfico 3.



3a



3b

Gráfico 3 - Influência do tipo de óleo, refinado (a) e degomado (b), sobre o índice de peróxido no concentrado controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4) armazenado a 40°C. Resultados expressos como média e desvio padrão de 4 experimentos realizados em duplicata.

Na avaliação dos tipos de óleo, observou-se que a adição de óleo de soja refinado não alterou de forma significativa os índices de peróxidos dos concentrados, ao longo dos 15 dias de experimento, em relação ao controle. Porém, todos os concentrados, incluindo o controle, apresentaram aumento de 54% no 5º de armazenamento, em relação ao primeiro dia de experimento, e este aumento se manteve até o final do experimento. Para o óleo de soja degomado, observou-se aumento no índice de peróxido no 3º dia de armazenamento em 57%, 44%, 123% e 93% para os respectivos T1, T2, T3 e T4, em relação ao controle neste mesmo dia de experimento. Estes peróxidos retornaram aos índices similares aos do concentrado controle no 5º dia de experimento, sem diferença significativa entre eles, mantendo-se nesta condição até o 15º dia.

Quanto à oxidação, os resultados deste trabalho não mostraram diferença entre os tipos de óleo, refinado e degomado, adicionados ao alimento, indicando ser favorável a utilização do óleo degomado na dieta animal. Outra vantagem do uso deste subproduto do refino do óleo de soja na nutrição animal é o baixo custo deste insumo ao produtor. Como desvantagem do uso de óleo de soja degomado, frente a outras fontes de lipídeos adicionados em rações, refere-se ao seu processamento, onde há a retirada da lecitina, constituída como fonte de colina, inositol e fósforo, compostos que possuem diversas propriedades nutricionais e funcionais, como a emulsão de gorduras para melhorar a digestão e a eficiência da alimentação animal.

Outra questão que precisa ser enfocada é que os óleos vegetais se tornam protegidos das oxidações pela presença de antioxidantes naturais, como a vitamina E. Contudo, após processamento, este antioxidante precisa ser adicionado na forma sintética aos óleos comerciais para se conseguir a estabilidade do produto. Neste trabalho, foram utilizados óleos de soja refinado e degomado obtidos comercialmente. O óleo de soja refinado continha em sua rotulagem nutricional obrigatória uma quantidade de vitamina E de 0,13 mg/mL. Entretanto, o conteúdo de antioxidantes presentes no óleo de soja degomado não foi determinado.

O principal antioxidante natural presente em óleos vegetais é o tocoferol, uma vitamina lipossolúvel da família da vitamina E, que funciona como um inibidor de oxidação dos ácidos graxos insaturados (MASUCHI et al., 2008). A atividade antioxidante dos tocoferóis ocorre principalmente devido à capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos impedindo a propagação em cadeia

no processo de oxidação. Segundo a localização dos seus grupos metila no anel, o tocoferol pode ser classificado como alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ). O óleo de soja possui níveis elevados de γ - e δ -tocoferóis que são antioxidantes mais efetivos do que α -tocoferol presentes no óleo de girassol (BAILEY, 1996). O α -tocoferol pode atuar como antioxidante ou pró-oxidante dependendo do sistema testado, da concentração, do tempo de oxidação e do método usado para acompanhar a oxidação. A concentração de tocoferol para otimizar a estabilidade oxidativa de óleo de soja corresponde a valores entre 400 e 600 mg/kg (FRANKEL, 1996).

A presença de antioxidantes pode constituir uma forma de proteção da oxidação dos alimentos adicionados de óleo, assim como, a sua inclusão nas formulações das dietas pode beneficiar a qualidade dos ingredientes adicionados pela preservação das características nutritivas originais, auxiliando na prevenção dos danos causados pela oxidação do alimento sobre a saúde do animal (ROCHA, 2010).

Os resultados do índice de acidez determinado no óleo extraído do concentrado controle (C) e dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 que foram adicionados de óleo de soja refinado ou degomado, encontram-se no Gráfico 4.

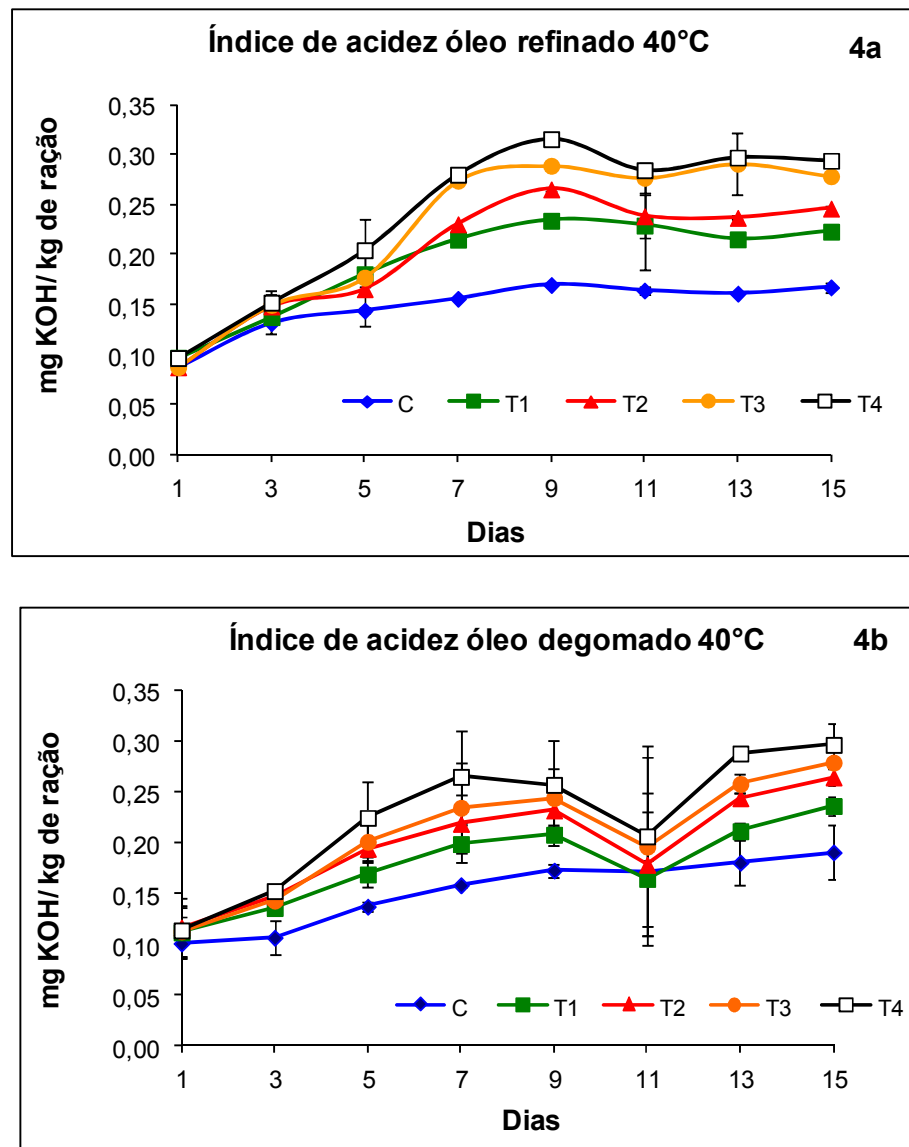


Gráfico 4 - Influência do tipo de óleo, refinado (a) e degomado (b), sobre o índice de acidez no concentrado controle (C) e adicionados de óleo de soja refinado 2% (T1), 4% (T2), 6% (T3) e 8% (T4) armazenado a 40°C. Resultados expressos como média e desvio padrão de 4 experimentos realizados em duplicata.

O aumento do índice de acidez refletido pela adição de óleo de soja refinado ao concentrado foi de 19%, 25%, 44%, 44% para os respectivos tratamentos T1, T2, T3 e T4, em relação ao controle, e manteve-se nesta condição nos próximos dias de experimento. Similarmente, o efeito da adição de óleo de soja degomado resultou em aumento de 21%, 36%, 43% e 57% a partir do 5º dia de experimento, em relação ao 1º dia, exceto no 11º dia, em que o índice de acidez nos concentrados adicionados de óleo de soja degomado não diferiram do controle nesse mesmo dia de experimento.

Não há relatos na literatura sobre a oxidação de rações adicionadas de óleo de soja refinado e degomado. Contudo, em outros alimentos como farinhas e farelos, a acidez normalmente é verificada pela presença de ácidos graxos livres formados a partir da hidrólise das gorduras e este tipo de reação está associada à rancidez hidrolítica (BELLAYER; ZANOTTO, 2004). Ainda, podem estar presentes nos alimentos, bactérias lipolíticas que hidrolisam as gorduras por meio da liberação de lipases que também causam rancidez. Desta forma, a acidez do óleo é um indicativo do seu estado de conservação e, muitas vezes, pode estar associada à contaminação bacteriana, acelerada por outros fatores como a temperatura. Algumas farinhas, por exemplo, apresentam valores aproximados de 6 mg de NaOH/g de amostra, contudo, o ideal é que a acidez das farinhas neutralize no máximo 2 mg de NaOH/g de amostra (ANFAL, 1998).

Petenuci et al. (2010), avaliaram uma farinha produzida a partir de espinhaços de tilápia e monitoraram sua estocagem por um período de 90 dias, e encontraram valores de índice de acidez de 0,91, 1,00, 1,09 e 1,19 mg de NaOH/g de lipídeos extraídos das amostras, com diferença significativa apenas aos 90 dias de estocagem, e de acordo com os mesmos autores, a Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentação Animal – Anfal (1998), determina que farinhas de carne e ossos, por exemplo, devem apresentar no máximo 4 mg de KOH/g de amostra e 20 meq/kg de amostra para serem usadas na ração animal.

A qualidade do óleo processado, seja refinado ou degomado, pode ser influenciada por diversos fatores como a qualidade do óleo bruto, do material do qual o óleo foi extraído (FRANKEL; NASH; SNYDER, 1987; REGITANO-D'ARCE et al., 1994) e, principalmente, pelo tempo e temperatura de armazenamento, sendo que a maior causa da perda da qualidade dos óleos se deve a danos causados pelo calor.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados neste trabalho, foi possível concluir que nas condições estudadas, o índice de peróxido e o índice de acidez dos concentrados adicionados de óleo de soja são influenciados pela temperatura de armazenamento e independem da porcentagem e do processamento do óleo. Também, os dois tipos de óleo, refinado e degomado, podem ser utilizados em formulações de rações sem alterar o perfil oxidativo do concentrado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE. **Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais**. Disponível em: <<http://www.abiove.com.br>>. Acesso em: 02 out. 2010.

_____A rancidez oxidativa em alimentos. **Aditivos e Ingredientes**. 80.ed. São Paulo: Editora Insumos, 2011. Disponível em: <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/edicoes_materias.php>. Acesso em: 25 nov. 2011.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis of the AOAC. 15.ed. Virginia, Washington: Arlington, 1990. p.1298. method Cd 8-53.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis of the AOAC. 15.ed. Virginia, Washington: Arlington, 1990. p.1298. method 46 -12.

AOAC. **Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists Society**. 4.ed. Washington, 1993. v.1. method 15A.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**, Official methods of analysis of the AOAC. 16.ed. Washington, D.C., 1995. p.1-30. method 08-01

ARAÚJO FILHO, J.A. Pastoreio múltiplo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 7., 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luís de Queiroz", 1985. p.203-233.

ARELLANO, D.B. **Química de Óleos e Gorduras**. Shot Course sobre Refino e Processamento de óleos comestíveis. Disponível em: <http://www.oleosegorduras.org.br/.../file/Quimica_de_Oleos_Gorduras.pdf>. Acesso em: 25 set. 2011.

ANFAL. **Compêndio de alimentação animal**. 4.ed. Brasília: ANFAL, 1998. 258p.

ANVISA. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº93, de 21 de outubro de 2000. Dispõe sobre o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de massa alimentícia. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 01 nov.2000.

BAILEY, A.E. **Bailey's industrial oil e fat products**. 5.ed., New York: John Wiley, 1996, v.3, p.429-481.

BEAUDOIN, A.R. **The embriotoxicity of gossypol. Teratology**. New York, 1985: p.251-257.

BELINATO, G. **Estudo da oxidação dos óleos de soja e dendê aditivados com antioxidantes para uso em tratamentos térmicos de têmpera**. 2009. 119f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Instituto de Física de São Carlos, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

BELLAVER C.; ZANOTTO, D.L. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos protéicos de origem animal. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2004, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 2004.

BELTRÃO, N.E.M. **O Agronegócio do Algodão no Brasil**. v.1, 1.ed., EMBRAPA: Campina Grande - PB, 1999.

BERSET, C.; CUVELIER, M.E. Méthodes d'évaluation du degree d'oxydation des lipids et de mesure du pouvoir antioxidant. **Sciences des Aliments**, v.16, p.219-224, 1996.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry an Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

CABEL, M.C.; WALDROUP, P.W.; SHERMER W.; CALABOTTA, D.F. Effects of ethoxyquim feed preservative and peroxide level on broiler performance. **Poultry Science**, v.6, p.1725-1730, 1988.

CARDOSO, R.C.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F. Consumo e digestibilidade aparentes totais e parciais de rações contendo diferentes níveis de concentrado em novilhos F1 Limousin X Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1832-1843, 2000.

CASEY, J. Lecithin as an antioxidant for fats en animal foods. **Central Soya**. Disponível em: <<http://www.centralsoya.com/censoya/censoya.nsf>>. Acesso em 15 jun. 2010.

CONEGLIAN, S.M.; LIMA, B.S.; SILVA, L.G.; LAZZARI, C.M.; SERRANO, R.D.C.; TONELLO, C.L. Utilização de antioxidantes nas rações. **Pubvet**, Londrina, v.5, 152.ed., 2011. Art. 1026.

CUESTA, C.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. Quality control during repeated fryings. **Grasas y Aceites**, v.49, p.310-318, 1998.

D'ANGELO, L.S. **Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação**. 2009. 91f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

DIAZ, J.C.M.; RODRÍGUEZ, J.A.; ROUSSOS, S.; CORDOVA, J.; ABOUSALHAM, A.; CARRIERE, F.; BARATTI, J. Lipase from the thermotolerant fungus *Rhizopus homothallicus* is more thermostable when produced using solid state fermentation than liquid fermentation procedures. **Enzyme Microbial Technology**, v.39, p.1042-1050, 2006.

DROZDOWSKI, B.; SZUKALSKA, E.A. A rapid instrumental method for the evaluation of the stability of fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.64, p.1008-1011,1987.

ENGBERG, R.M.; LAURIDSEN, C.; JENSEN, S.K.; JACOBSEN, K. Inclusion of oxidised vegetable oil in broiler diets. Its influence on nutrient balance and on antioxidative status of broilers. **Poultry Science**, v.75, p.1003-1011, 1996.

EYS, J.E.; OFFNER, A.; BACH, A. **Manual of quality analyses for soybean products in the feed industry**. 115 p. Fourqueux: ASA , 2004.

FAO. **Food and Agriculture Organization**, State of the World's Forests 2009. FAO, Rome, 2009.

FARIA, E.A.; LELES, M.I.G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T.O.; ANTONIOSI FILHO, N.R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. **Enciclopédia Química**, v.27, p.111-119, 2002.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acríbia, 2000. 1258p.

FISCHER, G.; BERMUDEZ, V.L.; SIQUEIRA, E.B. Peroxidação em amostras de milho, protegidas ou não por etoxiquim. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, p.227-232, 2005.

FORBES, J.M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. Wallingford: CAB International, 1995.

FRANKEL, E.N.; NASH, A.M.; SNYDER, J.M. A methodology study to evaluate quality of soybeans stored at different moisture levels. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.64, p.987-992, 1987.

FRANKEL, E.N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**, v.57, p.51-55,1996.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. **Adequação da Metodologia KJELDAHL para Determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta**. Embrapa Pantanal: Corumbá, MS, 2006.

GATTO, V.J.; MOEHLE, W.E.; COBB, T.W.; SCHNELLER, E.R. Oxidation fundamentals and its application to turbine oil testing. **Journal of ASTM Internacional**, v.3. April, 2006.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

GIESE, J. Fats, Oils and fat replacers. **Food Technology**, p.78-84, 1996.

GRUMMER, R.R. Gordura da dieta: Fonte energética e/ou regulador metabólico? In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 8., 2004, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: CONAPEC Jr – UNESP-BOTUCATU, 2004. p.83-108.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. **Archives Biochemical Biophys. Elsevier**, v.246, p. 501-514, 1986.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD G.P. Lipid metabolism in the rumen. **Rumen Microbial Ecosystem**. Blackie Academic e Professional, p.382, 2.ed. New York, 1997.

HELLÍN, L.C; CLAUSELL, M.P.R. Incidencia de la fritura en la composición de la fracción lipídica de diversos aperitivos de consumo generalizado en nuestro país. **Analises Bromatológicas**, v.36, p.5-31, 1984.

HOU, H.J.; CHANG, K.C. Storage conditions affect soybean color, chemical composition and tofu qualities. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v.28, p.473-488, nov./dez. 2004.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 533p. 3.ed. São Paulo: IMESP, 1985, v.1, p.245-266.

INOUE, T.; KURASHIGE, A.; MINETOMA, T.; SHIGYO, F. **Nutritional effect of oxidized soybean oil in broiler diet**. In: XVII World's Poultry Congress. Helsinki, Finland, 1984. p.368-369.

JAEGER, K.E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. Current opinion in biotechnology. **Elsevier**, v.13, p.390-397, 2002.

KORRES, A.M.N.; RAMPINELLI, J.P.M.; POLITANO, A.P.; MARÇAL, M.F.; SPADETO, P.R.; HEIDERIC, R.C. Pontos críticos de controle de microrganismos durante a produção de silagem – uma abordagem microbiológica da literatura. **Scientia, Revista do Centro Universitário Vila Velha**, v.3, p.93-106, jan/jul. 2002.

LAWSON, H. **Food oils and fats: technology, utilization and nutrition**. New York, 1995, p.339.

LIN, C.F.; ASGHAR, A.; GRAY, J.I. Effects of oxidized dietary oil and antioxidant supplementation on broiler growth and meat stability. **British Poultry Science**, v.30, p.855-864, 1989.

LIN, H.; BOYSLON, T.D.; CHANG, M.J. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.2358-2365, 1995.

LINDSEY, D. Lecthinin in animal feeds. **Central Soya**. Disponível em <<http://www.centralesoya.com/censoya/censoya.nsf>>. Acesso em: 25 abril 2011.

LIU, K. Soybean oil extraction and processing. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: ITP, 1997. p. 297-346.

LOPES, I.R.V.; FUENTES, M.F.F.; FREITAS, E.R.; SILVA, R.B.; LIMA, R.C.; BEZERRA, R.M. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte

alimentados com rações contendo farelo da castanha de caju tratado ou não com antioxidante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1502-1508, 2009.

MASUCHI, M.H.; CELEGHINI, R.M.S.; GONÇALVES, L.A.G.; GRIMALDI, R. Quantificação de TBHQ (Terc Butil Hidroquinona) e Avaliação da Estabilidade Oxidativa em Óleos de Girassol Comerciais. **Química Nova**, v.31, p.1053-1057, 2008.

MENEGASSI, B.; LEONEL M. Efeito da adição da farinha de mandioca-salsa nas características de massa alimentícia. Publicação Universidade Estadual de Ponta Grossa. **Ciências Exatas, Terra, Ciências da Engenharia Agrônoma**, vol.11, p.13-19, dez. 2005.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. (Ed.). **Food chemistry**. 3. ed. New York: M. Dekker , 1996. p.225-319.

NAZ, S.; SHEIKH, H.; SIDDIQI, R.; SAYEED, S.A. Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions. **Food Chemistry**, Oxford, v.88, p.253-259, nov. 2004.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6.ed., Washington, D.C.: National Academic Science , 1989. p.158.

O'BRIEN, R.D. Fat an oils. In: O'BRIEN, R.D. (Ed.). **Fats and oils formulating and processing for applications**. Boca Raton: CRC Press, 2004. p.175-232.

PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T.C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1-14, 1980.

PELEGRINI, B. **Girassol: uma planta solar que das Américas conquistou o mundo**. São Paulo : Ícone,1985. p.117.

PETENUCCI, M. E.; STEVANATO, F.B.; MORAIS, D.R.; SANTOS, L.P.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Composição e estabilidade lipídica da farinha de espinhaço de tilápia. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, p.1279-1284, 2010.

POUZET, A. Presentation of some results of the Concerted Action on the management of oilseed crops in the European Union. **OCL – Oleagineux Corps Gras Lipides**, v.6, p.6-21, 1996.

QUINTEIRO, L.M.C.; VIANNI, R. Características e estabilidade de óleos de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v.15, p.29-36, 1995.

RACANICCI, A.M.C.; MENTEN, J.F.M.; IAFIGLIOLA, M.C. Efeito da adição do antioxidante BHT e do armazenamento sobre a qualidade da farinha de carne e ossos para frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, p.155-161, 2000.

RACANICCI, A.M.C.; MENTEN, J.F.M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Oxidação lipídica do óleo de vísceras de aves reduz o seu conteúdo de energia metabolizável para frangos de corte na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.919-923, 2004.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, p.755-760, jul./ago. 2006.

REDDY, P.V.; MORRIL, J.L.; NAGARAJA, T.G. Release of fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.341-346, 1994.

REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; RAUENMIGUEL, A.M.O.; CASAGRANDE, J.R.R.; MARCOS, E.A.; PLONIS, G. Time of harvesting and storage of soybeans - influence on oil quality. **Grasas Y Aceites**, v.45, p.237-240, 1994.

RIBEIRO, A.P.B.; SOARES, M.S.; MOURA, J.L.N.; CÁCERES, M.C.; GONÇALVES, L.A.G. Aplicações da tecnologia de membranas no processamento de óleos

vegetais. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.23, p.1-22, 2005.

ROBEY, W.; SHERMER, W. The damaging effects of oxidation. **Feed Mix**, v.2, p.22-26, 1994.

ROCHA, C. **Qualidade do óleo de soja e adição de vitamina E na ração de perus**. Curitiba. 2010. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná, 2010.

SANTOS, A.D.F.; TORRES, C.A.A.; RENNÓ, F.P.; DRUMOND, M.R.S.; FREITAS JÚNIOR, J.E. Utilização de óleo de soja em rações para vacas leiteiras no período de transição: consumo, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1363-1371, 2009.

SANTOS, W.P.C. **Bromatologia II**. Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná. Paraná: Medianeira, 1998.

SCHAUFF, D.J. ; ELLIOTT, J.P.; CLARK, J.H. Effect of feeding lactating dairy cows diets containing extrude soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.1923-1935, 1992.

SCHNEIDER, B.H.; FLATT, P.W. **The evaluation of feeds through digestibility experiments**. 1.ed. Athens: The University of Georgia Press, 1975.

SHANTHA, N.C.; DECKER, E.A. Rapid sensitive Iron based spectrophotometric methods for the determination of peroxide values in food lipids. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v.77, p.421-424, 1994.

SILVA, E.N.; TEIXEIRA, A.S.; FIALHO, E.T.; BERTECHINI, A.G.; SOUZA, P.R.I. Efeitos dos probióticos e antibióticos sobre as vilosidades e pH do trato gastrointestinal de frangos de corte. **Ciências agrotécnicas**, v.24 p.163-173, dez., 2000.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, p. 94-103, 1999.

SILVA, Y.L.; PEIXOTO, R.R; PEIXOTO, C.R. Efeito da rancidez no valor nutricional de farelo de arroz com alto teor de gordura para poedeiras. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.19, p.23-30, 1990.

SIMAS, J.M.C. Como utilizar gordura em dieta de vacas leiteiras. **Revista Balde Branco**, v.34, p.26-30, 1998.

SOLOMONS, T.W. **Química Orgânica 2**, 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

SOUZA, E.C. **Estudo da oxidação do óleo de soja com diferentes concentrações de aditivos antioxidantes para uso em tratamentos térmicos de têmpera**. 2007. 160f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Instituto de Química de São Carlos, Instituto de Física de São Carlos, Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

STERN, M.D.; ILLG, D.J. Empleo de soya integral e la alimentación de ruminantes. **Soya Noticias**, v.20, p.277-14-20, 1991.

STRICKLER, M.T. **Effect of feeding the kunits trypsin-inhibitor-free soubean on swine growth performance**. 1991. 74f. Dissertação de Mestrado. Urbana: University of Illinois, 1991.

TROMBINI, F.R.M. **Caracterização de produtos extrusados de misturas de farinha de soja, fécula e farelo de mandioca**. 2010. 100f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Energia na Agricultura). Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Campus de Botucatu. Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu, 2010.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N. The ruminal microbial ecosystem. **Elsevier**, p.387-443, 1988.

VAN SOEST, P.J. Symposium on factors influencing the voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**, v.24, p.834-843, 1965.

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.522-529, 2002.

VIVIAN, L.T. **Ácido fumárico e quelato de cálcio contendo fósforo na dieta de leitões desmamados: desempenho e características intestinais**. 2009. 59f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

WANG X.; CASTANON F.; PARSONS M.C. Order of amino acid limitation in meat and bone meal. **Poultry Science** , v.76, p.54-58, 1997.

WIEDERMANN,L., ERICKSON,D. Soybean oil: modern processing and utilization. *Inform.*, v.2, p.200-13, 1991.