

Efeito da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) sob diferentes formas de preparo na resposta biológica em ratos¹

Effect of flaxseed (Linum usitatissimum L.) prepared by different methods on the biological response of rats

Anne y Castro MARQUES²

Tiffany Prokopp HAUTRIVE²

Guilherme Barcellos de MOURA²

Maria da Graça Kolinski CALLEGARO²

Luisa Helena Rychecki HECKTHEUER²

RESUMO

Objetivo

Verificar as possíveis atividades biológicas causadas pelo consumo diário de linhaça em diferentes condições de preparo, em ratos *Wistar* machos recém-desmamados.

Métodos

Os ratos recém-desmamados (n=32) foram divididos em 4 grupos de 8 animais: ração padrão; ração com 16% de grão de linhaça cru; ração com 16% de grão de linhaça assado; e ração com 7% de óleo de linhaça. Os animais foram pesados a cada três dias e, após 23 dias de período experimental, foram sacrificados por punção cardíaca, sendo os órgãos imediatamente pesados e o sangue coletado e armazenado a -18°C para realização das análises (glicose, colesterol total, lipoproteína de alta densidade - colesterol, triglicerídios e proteínas totais). As fezes foram coletadas para a determinação de umidade, lipídeo excretado e lipídeo absorvido.

Resultados

Não houve diferença entre os grupos quanto ao ganho de peso total, consumo diário, coeficiente de eficácia alimentar e peso dos órgãos. A excreção diária, o teor de umidade das fezes e a quantidade de lipídeo fecal foram maiores nos grupos linhaça cru e linhaça assada em comparação aos grupos padrão e óleo de linhaça. Com exceção do lipoproteína de alta densidade-colesterol, todos os demais parâmetros bioquímicos avaliados apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos.

¹ Artigo elaborado a partir da dissertação de A.C. MARQUES, intitulada "Propriedades funcionais da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos". Universidade Federal de Santa Maria; 2008.

² Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciências dos Alimentos. Av. Roraima, 1000, Prédio 42, Sala 3135A, Cidade Universitária, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: A.C. MARQUES. E-mail: <annezita@fea.unicamp.br>.

Conclusão

O consumo de linhaça, seja como grão cru, assado ou óleo, possui atividade biológica em ratos, destacando-se por reduzir os níveis de glicose, triglicerídios e colesterol. Além disso, o consumo do grão de linhaça aumentou significativamente o volume do bolo fecal e a excreção de lipídeos nas fezes.

Termos de indexação: Ácido alfa-linolênico. Linho. Ratos.

ABSTRACT

Objective

The objective of this investigation was to evaluate the effects of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) prepared by different methods on the biological response of rats.

Methods

Weaned rats ($n=32$) were divided into 4 groups of 8 animals each: standard feed, standard feed with 16% raw flaxseed, standard feed with 16% roasted flaxseed and standard feed with 7% flaxseed oil. The animals were weighted at every 3 days and after 23 days, rats were killed by heart puncture. The organs were immediately weighed and the blood was collected and stored at -18°C for biochemical assays (blood glucose, total cholesterol, High density lipoprotein-cholesterol, triglyceride and total protein). The feces were collected for analysis of moisture, excreted lipids and absorbed lipids.

Results

The groups did not differ with respect to weight gain, daily food intake, food efficiency ratio and organ weight. Daily excretion, feces moisture and fecal lipid content were greater in the groups fed raw and roasted flaxseed than in the groups fed standard feed and flaxseed oil. Except for high density lipoprotein-cholesterol, all other biochemical parameters presented statistical differences between treatments.

Conclusion

Raw or roasted flaxseed or flaxseed oil has biological activity in rats: it reduces blood glucose, triglyceride and cholesterol levels. Furthermore, rats fed raw and roasted flaxseed presented a significantly greater fecal volume and fecal lipid content.

Indexing terms: Alpha-linolenic acid. Flax. Rats.

INTRODUÇÃO

Linum usitatissimum L., popularmente conhecida como linhaça ou linho, é uma planta pertencente à família das *Lináceas* originária da Ásia¹. Da casca da planta é retirada a fibra do linho, matéria-prima para a fabricação de tecidos, e da cápsula se obtém a semente. Apesar de usada há milênios na alimentação humana, a maior parte de seu cultivo é destinada às indústrias de óleo para tintura e para ração animal^{2,3}.

O grão de linhaça é rico em ácidos graxos poli-insaturados α -linolênico (ALA, 18:3n-3) e, em menor quantidade, linoleico (AL, 18:2n-6)⁴. O ALA e o AL, depois de ingeridos, podem ser transformados em prostaglandinas e leucotrienos com atividades imunomoduladoras. Além disso, o ALA

constitui fonte energética e matéria-prima do tecido nervoso, bem como de substâncias que regulam a pressão arterial/frequência cardíaca, a coagulação, a dilatação vascular e a lipólise⁵⁻⁷. Além de ser composto por aproximadamente 40% de lipídeos, o grão também contém aminoácidos essenciais (destacando-se metionina e cisteína), lignanas, fibras alimentares solúveis e insolúveis, goma, ácidos fenólicos, flavonoides, ácido fítico, vitaminas (B₁, B₂, C, E, caroteno) e minerais (ferro, zinco, potássio, magnésio, fósforo, cálcio), os quais também são responsáveis pelos efeitos benéficos à saúde, reforçando as propriedades funcionais da linhaça^{2,8-10}.

Segundo a *United States Department of Agriculture* (USDA)⁴, 1% a 12% de linhaça pode ser usada como ingrediente na alimentação, sem

riscos à saúde. O grão pode ser consumido *in natura*, inteiro ou moído, acrescentado diretamente sobre alimentos tais como as frutas, o leite ou o iogurte, ou pode também ser utilizado como ingrediente na preparação de pães, biscoitos, sobremesas, feijão e produtos cárneos^{2,11}. Há ainda o óleo de linhaça, rico em ácido α -linolênico¹², ao contrário da maioria dos óleos vegetais, que são boas fontes de AL. No entanto, apesar de presente em grande quantidade, o ALA do grão e do óleo é sensível à luz, ao aquecimento e à presença de oxigênio, o que causa deterioração desencadeada pelo processo oxidativo e consequente perda de qualidade^{13,14}. Tendo em vista as propriedades funcionais da linhaça e as modificações que podem ocorrer em seus constituintes durante o processamento, este trabalho teve como objetivo verificar as possíveis atividades biológicas, em ratos recém-desmamados, causadas pelo consumo diário de linhaça em diferentes condições de preparo.

MÉTODOS

O grão e o óleo de linhaça foram fornecidos pela empresa Cisbra Alimentos, de Panambi (RS), sendo ambos pertencentes a lotes únicos. O óleo extraído a frio foi embalado e armazenado em frascos plásticos próprios para óleos vegetais. A linhaça em grãos foi utilizada triturada, tanto crua quanto assada, sendo que esta sofreu tratamento térmico em forno elétrico a 180°C, por 40 minutos (em forno pré-aquecido por 5 minutos a 180°C), antes da moagem.

As análises de umidade, cinzas, proteína bruta e fibra alimentar do grão cru foram realizadas de acordo com as técnicas descritas pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC)¹⁵. O teor lipídico foi obtido a partir do método de *Soxhlet*, usando-se éter de petróleo¹⁶. O teor de carboidratos, por sua vez, foi determinado por diferença. Já o teor de lipídeos do óleo foi obtido por diferença do conteúdo de umidade após 12 horas em estufa a 105°C. As análises foram realizadas em triplicata, nos laboratórios

do Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos (DTCA) e no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), ambos na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Tratamentos

Além da ração padrão elaborada conforme as recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN)¹⁷, foram produzidas outras três dietas com substituição parcial dos ingredientes óleo de soja, celulose microcristalina e caseína por grão e/ou óleo de linhaça, equilibrando os macronutrientes e o valor energético em todos os tratamentos (Tabela 1). Ajustou-se o conteúdo energético das dietas pela variação da quantidade de amido de milho¹⁸. Os tratamentos foram divididos em: ração padrão (P); ração com linhaça crua (16%) e óleo de linhaça (LC); ração com linhaça assada (16%) e óleo de linhaça (LA); e ração com óleo de linhaça (OL). A quantidade de linhaça utilizada foi de 16% para não extrapolar as quantidades de fibras e proteínas das dietas suplementadas com o grão, e o óleo de linhaça foi adicionado para se alcançar o equilíbrio lipídico (7% em relação ao peso das dietas) entre os tratamentos.

Os ingredientes da ração foram peneirados três vezes para que as dietas ficassem homogêneas e com a mesma granulometria. Apesar de conterem antioxidante (TBHQ), as rações foram preparadas semanalmente, divididas em pacotes de 1kg e conservadas sob refrigeração, com o intuito de minimizar a oxidação lipídica dos ácidos graxos poli-insaturados.

Animais e protocolo experimental

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFSM, sob o Processo nº 23081.000890/2008-68, em 17 de março de 2008. Os grupos foram compostos por 8 ratos machos da linhagem *Wistar*, totalizando 32 animais, recém-desmamados (21 dias de idade), com peso médio de 67,75 Desvio-Padrão (DP)

4,93g, procedentes do Biotério da UFSM, distribuídos aleatoriamente. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais, equipadas com bebedouro, comedouro e bandeja para coleta de fezes, em sala climatizada (Média - M=20, DP=2°C) e ciclos de 12h luz/12h escuridão.

O experimento teve duração total de 28 dias, sendo os cinco primeiros de adaptação às dietas. No período experimental (23 dias), os ratos receberam ração e água *ab libitum*. Do 6º ao 28º dia, foram determinadas a quantidade de ração consumida (diferença entre o ofertado e as sobras) e a quantidade de fezes excretadas. Estas foram coletadas a fim de determinar fezes úmidas totais (EFU), fezes secas totais (EFS), umidade (UF) e o teor de lipídeo fecal (TLF). O peso corporal dos animais foi registrado no início do experimento e a cada 3 dias, até o sacrifício.

Ao final do experimento, os animais ficaram 12 horas em jejum, sendo pesados, anestesiados com éter etílico e sacrificados por punção

cardíaca. O sangue foi coletado em tubos de ensaio e centrifugado, de modo que o soro foi separado e armazenado a -18°C para realização posterior das análises. O sangue para a análise da glicemia foi colocado em tubo de ensaio contendo anticoagulante glicose, e, depois de centrifugado, teve o plasma coletado em *ependorf* e refrigerado. Os rins, o fígado e a gordura epididimal foram retirados e pesados.

As fezes foram secas em estufa com circulação de ar a 65°C, por 48h, e posteriormente resfriadas, pesadas e trituradas. A determinação da excreção lipídica foi realizada pelo método de *Soxhlet*, nas fezes secas¹⁹. O lipídeo absorvido foi calculado descontando-se, do total de lipídeos ingeridos pela dieta, os lipídeos excretados pelas fezes. Tanto os lipídeos excretados quanto os absorvidos foram expressos em percentual em relação ao total de lipídeos ingeridos. Já o Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA) foi obtido a partir da relação entre ganho de peso total do animal (g) e consumo total de ração (g)²⁰.

Tabela 1. Composição das rações oferecidas aos ratos. Universidade Federal de Santa Maria (RS), 2008.

Ingrediente (g/kg de ração)	P	LC	LA	OL
Caseína	199,9	171,0	171,0	199,9
Linhaça (grão)	-	152,0	152,0	-
Óleo de linhaça	-	1,45	1,45	66,2
Óleo de soja	66,2	-	-	-
Celulose microcristalina	50,0	-	-	50,0
Amido de milho	533,4	516,1	516,1	533,4
Sacarose	100,0	100,0	100,0	100,0
Mix de vitaminas	10,0	10,0	10,0	10,0
Mix de minerais modificado*	35,0	35,0	35,0	35,0
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5
L-cistina	3,0	3,0	3,0	3,0
Terbutilhidroquinona (TBHQ)	0,014	0,014	0,014	0,014
Carboidrato**	63,5	63,3	63,3	63,5
Proteína**	19,3	19,3	19,3	19,3
Lipídeo**	17,2	17,4	17,4	17,2
Valor energético (kcal)	3.647,0	3.603,8	3.603,8	3.647,0

* Mix de minerais (g/kg de mix): carbonato de cálcio anidro 357,0; fosfato de potássio monobásico 196,0; citrato de potássio 66,825; cloreto de sódio 74,0; sulfato de potássio 46,6; óxido de magnésio 24,0; sulfato ferroso 4,975; sulfato de zinco 3,6088; sódio meta-silicato 1,075; sulfato de manganês 0,925; sulfato de cobre 0,4328; dicromato de potássio 0,08; ácido bórico 0,0808; fluoreto de sódio 0,0635; quelato de níquel 1,3008; cloreto de lítio 0,0174; selenito de sódio 0,0102; iodeto de potássio 0,01; paramolibdato de amônio 0,008; vanadato de amônio 0,0066; sacarose pulverizada 222,9811. ** Em porcentagem do valor energético total.

P: ração padrão; LC: ração com linhaça crua; LA: ração com linhaça assada a 180°C por 40 minutos; OL: ração com óleo de linhaça.

Os níveis de Colesterol Total (CT), Lipoproteína de alta densidade colesterol (HDLc), Triglicerídios (TG) e Proteínas Totais (PTN totais) foram determinados no soro, e a glicemia em jejum foi quantificada no plasma. Foram usados métodos enzimático-colorimétricos, via emprego de *kits Doles*[®] e posterior leitura em espectrofotômetro.

Para a análise dos dados foi utilizado o programa estatístico *Statistical Analyses System* (SAS) 9.1.3.²¹. Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas, quando apropriado, pelo teste de *Duncan*, para alfa igual a 0,05²². Os resultados são apresentados como média e desvio-padrão.

RESULTADOS

A partir da análise química, determinaram-se os teores de umidade, cinzas, proteína bruta,

lipídeos, fibra alimentar total e carboidratos presentes no grão de linhaça *in natura*, assim como o teor de umidade e quantidade de lipídeos no óleo (Tabela 2). Os valores encontrados serviram de base para o cálculo e formulação das rações. É possível observar que a composição centesimal da linhaça usada neste estudo é semelhante aos valores encontrados por outros autores, principalmente quando equiparada à composição da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)²³. O valor de carboidrato, que inclui a fibra alimentar total, foi o que apresentou maior discrepância.

Não houve diferença entre os grupos quanto ao ganho de peso total, o consumo diário e o CEA. A excreção fecal diária, no entanto, foi significativamente ($p=0,001$) maior nos ratos que consumiram as rações com o grão de linhaça (LC e LA) em comparação aos grupos P e OL (Tabela 3). É importante ressaltar que todos receberam a

Tabela 2. Composição química do grão e do óleo de linhaça e comparação com outros autores. Universidade Federal de Santa Maria (RS), 2008.

	Grão	Grão ²³	Grão ⁴	Óleo	Óleo ⁴
Umidade (g%)	6,7	6,7	6,9	0,1	0,0
Cinzas (g%)	3,7	3,7	3,7	0,0	0,0
Proteína (g%)	16,7*	14,1**	18,3**	0,0	0,0
Lipídeo (g%)	37,0	32,3	42,2	99,0	100,0
Fibra alimentar (g%)	32,9	33,5	27,3	0,0	0,0
Carboidratos (g%)***	35,9	43,3	28,9	0,0	0,0

* Valor de conversão utilizado para cálculo: N=5,41, **Valor de conversão utilizado para cálculo: N=5,3; ***No valor de carboidratos estão inclusos a fibra alimentar total e o carboidrato digerível.

Tabela 3. Ganho de Peso Total (GPT), consumo diário, Excreção Diária de fezes (ED fezes) durante o período experimental e peso dos órgãos dos animais recebendo diferentes rações com linhaça. Universidade Federal de Santa Maria (RS), 2008.

Parâmetros	Padrão (P)		LC		LA		OL	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
GPT (g)	118,10 ^a	16,00	129,00 ^a	17,00	128,60 ^a	11,00	122,40 ^a	13,00
Consumo diário (g)	17,50 ^a	1,40	18,50 ^a	1,90	18,40 ^a	1,10	18,31 ^a	2,00
ED fezes (g)	1,60 ^b	0,20	2,20 ^a	0,30	2,50 ^a	0,40	1,70 ^b	0,20
CEA*	0,29 ^a	0,02	0,30 ^a	0,02	0,30 ^a	0,01	0,29 ^a	0,02
Fígado**	3,70 ^a	0,40	3,60 ^a	0,20	3,50 ^a	0,30	3,40 ^a	0,20
Rins**	0,80 ^a	0,10	0,70 ^a	0,10	0,80 ^a	0,10	0,80 ^a	0,10
G. epididimal**	1,10 ^a	0,30	1,10 ^a	0,20	0,90 ^a	0,20	1,10 ^a	0,20

*CEA: Coeficiente de eficácia alimentar (ganho peso total/consumo total); **Dados expressos em g de órgão/100g de peso corporal. Período experimental de 23 dias (animais com 40 dias de vida). Resultados expressos em Média (M), Desvio-Padrão (DP). Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Duncan com α 0,05.

mesma quantidade de fibras alimentares e água *ab libitum*. Os grupos foram semelhantes estatisticamente em relação ao peso (em g de órgão/100g de peso corporal) do fígado, dos rins e da gordura epididimal, com $p=0,1204$, $p=0,3607$ e $p=0,1810$, respectivamente (Tabela 3).

Os dados referentes à excreção fecal podem ser observados na Tabela 4. Os grupos LC e LA, ambos recebendo a linhaça em grão, foram semelhantes estatisticamente e diferiram dos grupos P e OL (também semelhantes entre si), quando avaliados: excreção de fezes úmidas totais, teor de umidade das fezes, quantidade de lipídeo fecal e quantidade de lipídeo absorvido. A excreção fecal nos grupos LC e LA foi visivelmente maior que nos demais, sendo as fezes compostas por maiores quantidades de água e de lipídeo. A absorção de lipídeos, conseqüentemente, foi maior nos tratamentos sem o grão de linhaça (P e OL). A excreção de fezes secas totais no grupo

OL mostrou-se semelhante ao controle (P) e ao LC, enquanto os tratamentos P, LA e LC tiveram diferenças significativas entre si ($p=0,0001$).

Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados, glicemia, TG, CT, HDLc e proteínas totais, observa-se na Tabela 5 que os mesmos apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos, com exceção do HDLc. A glicemia em jejum dos animais foi maior no grupo P e menor no grupo LC. Os valores de TG dos grupos LC e OL foram menores quando comparados aos grupos LA e P. Já o CT e as proteínas totais foram menores em todos os tratamentos em relação ao controle (com $p=0,041$ e $p=0,0183$, respectivamente).

DISCUSSÃO

O ganho de peso, o consumo diário e o CEA dos ratos que receberam linhaça em grão

Tabela 4. Excreção de Fezes Úmidas totais (EFU), Excreção de Fezes Secas totais (EFS), teor de Umidade nas Fezes (UF), teor de Lipídeo absorvido (LIP absorvido) e Teor de Lipídeo Fecal (TLF) no processo experimental de nutrição de animais via diferentes rações com linhaça. Universidade Federal de Santa Maria (RS), 2008.

Parâmetros	Padrão (P)		LC		LA		OL	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
GEFU (g)	37,0 ^b	3,8	51,4 ^a	6,8	57,6 ^a	8,0	38,4 ^b	4,6
EFS (g)	26,9 ^c	2,0	31,0 ^b	3,3	34,7 ^a	3,1	28,9 ^{bc}	2,2
UF (g%)	27,0 ^b	2,9	39,2 ^a	4,1	40,6 ^a	4,8	23,6 ^b	3,2
LIP absorvido (%) [*]	98,3 ^a	0,2	88,2 ^b	4,1	88,5 ^b	3,0	98,1 ^a	0,2
TLF (%) ^{**}	1,7 ^b	0,2	11,8 ^a	4,1	11,5 ^a	3,0	1,9 ^b	0,2

^{*}% de lipídeo absorvido em relação ao total de lipídeos ingeridos; ^{**}% de lipídeos excretados em relação ao ingerido. Período experimental de 23 dias (animais com 40 dias de vida). Resultados expressos em Média (M), Desvio-Padrão (DP). Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Duncan com $\alpha 0,05$.

Tabela 5. Parâmetros bioquímicos avaliados no soro e no plasma dos animais recebendo diferentes rações com linhaça. Universidade Federal de Santa Maria (RS), 2008.

Parâmetros	Padrão (P)		LC		LA		OL	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
Glicemia (mg/dL)	224,4 ^a	62,8	160,8 ^b	33,6	180,4 ^{ab}	35,4	185,2 ^{ab}	65,7
TG (mg/dL)	137,0 ^a	60,3	76,8 ^b	26,8	104,8 ^{ab}	15,8	81,0 ^b	14,5
CT (mg/dL)	91,6 ^a	16,1	61,2 ^b	16,1	70,6 ^b	16,0	71,0 ^b	13,4
HDLc (mg/dL)	78,5 ^a	37,9	54,3 ^a	21,1	51,9 ^a	19,2	54,0 ^a	18,1
PTN totais (g/dL)	5,5 ^a	0,1	4,7 ^b	0,2	4,7 ^b	0,2	4,8 ^b	0,2

Período experimental de 23 dias (animais com 40 dias de vida). Resultados expressos em Média (M), Desvio-Padrão (DP). Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Duncan com $\alpha 0,05$.

ou em óleo foram semelhantes aos do grupo padrão. Esses resultados foram similares aos encontrados por Cintra *et al.*¹⁹, em ratos *Wistar* machos que receberam dietas com aproximadamente 25% de linhaça em grão. Contudo, é importante salientar que diferenças como a idade, a composição das dietas, as condições experimentais e principalmente a espécie podem ocasionar resultados diferenciados.

A excreção diária de fezes foi superior nos ratos que consumiram o grão de linhaça (LC e LA). A diferença nas fezes foi perceptível visualmente, tanto em relação ao volume excretado quanto à coloração: os animais que receberam ração com a linhaça em grão apresentavam fezes maiores e verde-escuras, enquanto os ratos dos tratamentos P e OL tinham fezes menores e marrom-claras. A quantidade de lipídeo excretado, também significativamente maior nos grupos LC e LA, pode ser a causa para as diferentes colorações, já que o lipídeo presente na linhaça é pigmentado¹². Cintra *et al.*¹⁹, comparando uma dieta que contém linhaça com dietas compostas de outras fontes lipídicas, observaram alta excreção fecal de lipídeo nos ratos alimentados com o grão, em relação aos demais tratamentos. A maior excreção lipídica nos grupos que consumiram o grão pode ser justificada pela menor disponibilidade dos lipídeos, já que na linhaça, mesmo moída, parte do óleo provavelmente está preso em estruturas teciduais⁸, não sendo liberado para digestão e absorção.

A linhaça em grão mostrou-se mais eficaz na retenção hídrica, resultando em maior peso úmido e maior teor de umidade nas fezes. Tanto a linhaça como a celulose microcristalina possuem capacidade de reter água e, com isso, de aumentar o volume fecal²⁴. O grão de linhaça contém fibra insolúvel e solúvel. A fibra insolúvel aumenta o volume das fezes pela sua própria massa e também pela água que mantém ligada ou adsorvida, sendo benéfica no tratamento da constipação, da síndrome do intestino irritável e da doença diverticular²⁵. Por outro lado, sabe-se que as fibras solúveis são em parte fermentadas pelas bactérias

do cólon. Quando a fibra é degradada por fermentação, diminui sua quantidade e, consequentemente, diminui o volume das fezes^{26,27}. Embora não tenham sido encontrados dados na literatura sobre a intensidade de fermentação da fibra da linhaça, os resultados deste trabalho indicam que, mesmo que uma parte da fibra da linhaça tenha sido fermentada, uma porção significativa resta íntegra e não é degradada. Isso faz aumentar o peso e a umidade das fezes dos grupos LC e LA em relação aos dos grupos P e OL, nos quais a única fibra encontrada foi a celulose. A quantidade de lipídeo excretado, significativamente maior nos grupos LC e LA, também contribuiu para o maior peso das fezes.

Quanto à excreção de fezes secas totais, os grupos P e OL, que receberam o mesmo tipo de fibra na dieta, apresentaram pesos semelhantes. Os grupos que receberam linhaça em grão apresentaram maior peso seco em relação ao controle, mas, descontando-se os lipídeos, o peso seco das fezes no grupo LC é menor que nos grupos P e OL. Esses dados indicam que houve degradação de parte da fibra solúvel da linhaça, diminuindo o peso seco das fezes, sendo o lipídeo não digerido a causa do maior peso das fezes dos grupos LC e LA. Em contrapartida, o grupo LA apresentou um maior peso seco das fezes do que LC, mesmo descontando os lipídeos. Isso provavelmente ocorreu porque o fornecimento produziu reações que diminuíram a digestibilidade da linhaça, tais como a reação de *Maillard*, formando compostos indigeríveis de proteína e carboidratos¹⁴.

O peso do fígado, dos rins e da gordura epididimal (g de órgão/100g de peso corporal), assim como o peso corpóreo, não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Vijaimohan *et al.*²⁸ observaram que ratos que receberam óleo de linhaça via oral (1g/kg peso) por 60 dias não apresentaram alterações histológicas no tecido hepático, com reduzida deposição de gordura nos hepatócitos. Collins *et al.*¹⁰ verificaram diminuição na relação fígado/peso corporal em ratas recém-desmamadas e alimentadas com linhaça. O ALA

aumenta a secreção de colesterol na bile, conduzindo à depleção do *pool* intra-hepático de colesterol, conseqüentemente aumentando a síntese e o *turnover* de colesterol²⁹. Além disso, o ALA reduz o acúmulo hepático de lipídeos por estimular a β -oxidação, inibindo a síntese de ácidos graxos e de triglicerídios^{19,30}. No entanto tais efeitos do ALA, se ocorreram em nosso estudo, não chegaram a afetar o peso relativo do fígado.

A glicemia em jejum foi numericamente menor em todos os grupos que receberam linhaça, seja como grão cru, grão assado ou óleo. No entanto, somente o grupo LC apresentou glicemia estatisticamente inferior ao grupo controle (sem linhaça). Infere-se que essa redução na glicemia se deva principalmente à fibra solúvel da linhaça crua, pois se sabe que a mucilagem (fibra solúvel) da linhaça retarda o esvaziamento gástrico, promove o controle glicêmico e reduz o colesterol²⁵. Mulheres na menopausa que consumiram 40g/dia de linhaça triturada, por exemplo, tiveram um decréscimo médio de 5,3% na glicose sanguínea³¹. É possível que o aquecimento sob temperatura elevada, mesmo no grão intacto, tenha causado alterações na fibra alimentar solúvel, diminuindo o controle glicêmico da linhaça assada (grupo LA).

Bhathena *et al.*³² avaliaram o consumo de farinha de linhaça e proteína de soja em ratos obesos, constatando maior redução de triglicerídios séricos nos animais alimentados com a linhaça em relação aos que receberam soja. No presente estudo, os valores de triglicerídios dos grupos alimentados com linhaça crua e óleo de linhaça foram menores quando comparados aos grupos LA e P, embora a diferença só tenha sido estatisticamente significativa em relação ao grupo P. Portanto, observa-se que em todos os grupos que receberam linhaça houve uma tendência de redução do triglicerídio sérico. Pode-se inferir que tal efeito deveu-se ao ALA, tendo em vista que esse ácido graxo pode inibir a síntese hepática de triglicerídios³⁰. Presume-se também que o efeito hipotrigliceridêmico do ALA, em comparação ao grupo padrão, foi significativo somente nos gru-

pos LA e OL, pelo fato de que este ácido graxo está presente em maiores quantidades na linhaça crua e no óleo de linhaça e que a temperatura de 180°C por 40 minutos alterou o perfil de ácidos graxos na linhaça assada, tendo como consequência uma diminuição de ALA nesse produto. Esse argumento é reforçado pelo fato de a linhaça crua e o óleo de linhaça terem apresentado resultados semelhantes. Como o óleo contém basicamente lipídeos, é possível afirmar que o caráter hipotrigliceridêmico dessa oleaginosa está no conteúdo de ALA e, nesse caso, não parece ser influenciada pelo teor de fibra alimentar, lignana ou outro composto.

Estudos para determinar os efeitos do colesterol no sangue datam de 1950 e já mostravam que dietas com diferentes teores e fontes lipídicas podem modular os níveis plasmáticos de colesterol, dependendo da composição dos ácidos graxos ingeridos³³. O colesterol total foi menor em todos os tratamentos com linhaça em relação ao controle. O decréscimo do colesterol plasmático pela administração do óleo de linhaça é relacionado com a diminuição do colesterol livre e do esterificado, e também com a n-6:n-3³². O efeito hipocolesterolêmico da linhaça tem importantes implicações terapêuticas em pacientes dislipidêmicos, sendo que estudos em humanos têm mostrado que o consumo de 40 a 50g/dia reduz o colesterol sérico entre 5% e 9%^{32,34}. Sabe-se também que outros constituintes da linhaça, como lignanas, fibras e proteínas, também podem desempenhar um papel importante na redução do colesterol sérico, em animais e/ou humanos, e, além disso, alguns deles também podem atuar diretamente sobre as paredes de vasos e artérias, prevenindo a aterosclerose¹⁸⁻¹⁹.

Os valores de HDLc, por sua vez, não tiveram diferença significativa entre os tratamentos, o que está de acordo com os resultados encontrados por outros pesquisadores^{7,25,35}. Vale ressaltar que o rato, por ter o metabolismo lipídico diferente dos humanos, pode não ser o modelo experimental ideal para estudos relacionados às alterações séricas de colesterol³⁶. As alterações no

metabolismo dos lipídeos ocasionadas pelo consumo de alimentos ou substâncias podem, portanto, ser observadas em humanos e não ser detectadas em ratos, e vice-versa.

As proteínas séricas totais foram menores em todos os tratamentos em relação ao grupo padrão. Wiesenfeld *et al.*¹⁸ encontraram resultado semelhante em ratas grávidas suplementadas com diferentes quantidades de linhaça e de farinha de linhaça desengordurada. Bhatena *et al.*³² também verificaram valores de proteínas totais menores em animais alimentados com linhaça. A diminuição da proteína sérica pode ser indicativo de desnutrição proteico-energética, hiperidratação, catabolismo, entre outros³⁷; entretanto, os demais parâmetros avaliados, assim como o peso corporal e a gordura epididimal dos animais, não ratificam nenhum dos quadros citados anteriormente. Essa diminuição na proteína sérica não foi esclarecida, assim como nenhum dos outros autores citados detectou prejuízo à saúde dos animais relacionado a menor proteína total. Além disso, Mitruka & Rawnsley³⁸ trazem como valor padrão para proteínas totais uma faixa entre 4,7 e 8,15g/dl. Baseando-se nessa referência, pode-se concluir que todos os animais deste estudo apresentaram níveis de proteínas totais normais.

Com base nos resultados encontrados no presente estudo e em trabalhos científicos disponíveis na literatura, considera-se relevante reforçar que, apesar de o ALA ser um constituinte importante da linhaça, outras substâncias presentes no grão, tais como lignanas e fibras, atuam em sinergia¹⁹, acarretando alterações benéficas para o organismo animal.

CONCLUSÃO

O consumo de linhaça, seja como grão cru, grão assado ou óleo, possui atividade biológica em ratos, destacando-se por reduzir a glicemia e os níveis séricos de triglicerídios e colesterol. Além disso, o consumo do grão de linhaça aumentou significativamente o volume do bolo fecal e a

excreção de lipídeos nas fezes. A ingestão da linhaça processada (grão assado ou fração lipídica do grão cru) resultou em alterações menos expressivas nos parâmetros avaliados quando comparada àquelas causadas pela ingestão do grão *in natura*. No entanto, alguns dos potenciais benefícios à saúde dos animais foram observados mesmo com o consumo da linhaça assada e do óleo de linhaça.

AGRADECIMENTOS

À Cisbra Alimentos, pela doação do grão e do óleo de linhaça; à Doles®, pela doação dos kits enzimáticos para análise sanguínea; ao CNPq (processo nº 134601/2007-6) e à Capes, pelo auxílio financeiro.

COLABORADORES

A.C. MARQUES participou da elaboração do projeto de pesquisa referente a sua dissertação de mestrado, da coleta de referencial teórico, da coleta e da análise de dados e da elaboração do artigo. T.P. HAUTRIVE participou da coleta de referencial teórico e de dados e da elaboração do artigo. G.B. MOURA participou da coleta de dados. L.H. HECKTHEUER orientou a elaboração do projeto de pesquisa, a análise dos dados e a elaboração do artigo. M.G.K. CALLEGARO participou da elaboração do projeto de pesquisa, da coleta de referencial teórico, da análise dos dados e da elaboração do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Pinto FST, Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Produção de farinha [acesso 2008 out 30]. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>.
2. Bombo AJ. Obtenção e caracterização nutricional de snacks de milho (*Zea mays L.*) e linhaça (*Linum usitatissimum L.*) [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006.
3. Campos VMC, Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais CETEC. Produção e beneficiamento de sementes de linhaça [acesso 2008 set 17]. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>.
4. United States Department of Agriculture. National nutrient database for standard reference: release

- 20 [cited 2008 Jun 20]. Available from: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search>>.
5. Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, *et al.* Ácidos graxos poliinsaturados omega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev Nutr.* 2006; 19(6):761-70. doi: 10.1590/S1415-52732006000600011.
 6. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci.* 2006; 1(4-5):386-99.
 7. Sanhueza J, Nieto S, Valenzuela A. Acido docosahexaenoico (DHA), desarrollo cerebral, memoria y aprendizaje: la importancia de la suplementación perinatal. *Rev Chilena Nutr.* 2004; 31(2):84-92. doi: 10.4067/S0717-75182004000200002.
 8. Oomah BD, Mazza G. Productos de linaza para la prevención de enfermedades. *In:* Mazza G, coordinador. Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado. Zaragoza: Acribia; 2000.
 9. Chen H-H, Xu S-Y, Wang Z. Interaction between flaxseed gum and meat protein. *J Food Eng.* 2007; 80(4):1051-59. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.08.017.
 10. Collin TFX, Sprando RL, Black TN, Olejnik N, Wiesenfeld PW, Babu US, *et al.* Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. *Food Chem Toxicol.* 2003; 41(6):819-34. doi: 10.1016/S0278-6915(03)00033-4.
 11. Villarroel M, Pino L, Hazbún J. Desarrollo de una formulación optimizada de mousse de linaza (*Linum usitatissimum*). ALAN. [Internet] 2006 [acceso 2008 out 15]; 56(2):185-91. Disponible: <<http://www.scielo.org>>.
 12. Choo WS, Birch J, Dufour JP. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J Food Compos Anal.* 2007; 20(3-4):202-11. doi: 10.1016/j.jfca.2006.12.002.
 13. Zheng YL, Wiesenborn DP, Tostenson K, Kangas N. Energy analysis in the screw pressing of whole and dehulled flaxseed. *J Food Eng.* 2005; 66(2):193-202. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.03.05.
 14. Fennema OR. Química de los alimentos. Zaragoza: Acribia SA; 1993.
 15. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC International. 16th ed. Washington: AOAC; 1995.
 16. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo: O Instituto; 1985.
 17. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 23(11):1939-51.
 18. Wiesenfeld PW, Babu US, Collins TFX, Sprando R, O'Donnell MW, Flynn TJ, *et al.* Flaxseed increased α -linolenic and eicosapentaenoic acid and decreased arachidonic acid in serum and tissues of rat dams and offspring. *Food Chem Toxicol.* 2003; 41(6):841-55. doi: 10.1016/S0278-6915(03)00035-8.
 19. Cintra DEC, Costa AGV, Penuzio MCG, Matta SLP, Silva MT, Costa NMB. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout or chicken skin. *Nutrition.* 2006; 22(2):197-05. doi: 10.1016/j.nut.2005.09.003.
 20. Moreira AVB, Mancini-Filho J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. *Rev Nutr.* 2004; 17(4):411-24. doi: 10.1590/S1415-52732004000400002.
 21. SAS Institute. SAS 9.1.3 service pack3. Cary: SAS Institute; 2003.
 22. Banzatto DA. Experimentação agrícola. 3^a ed. Jaboticabal: FUNEP; 1995.
 23. Universidade Estadual de Campinas. Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação. Tabela brasileira de composição de alimentos: TACO. 2^a ed. Campinas: Unicamp; 2006. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/>>.
 24. Behrens MDD, Netto-Ferreira JC. Fotoquímica de alfa, alfa-dimetilvalerofenona adsorvida em celulose microcristalina. *Quím Nova.* 2006; 29(1):5-10. doi: 10.1590/S0100-40422006000100002.
 25. Tarpila A, Wennberg T, Tarpila S. Flaxseed as a functional food. *Curr Top Nutraceutical Res.* 2005; 3(3):167-88.
 26. Filisetti TMCC, Lobo AR. Fibra alimentar e seu efeito na biodisponibilidade de minerais. *In:* Cozzolino. SMF. Biodisponibilidade de nutrientes. 2^a ed. Barueri: Manole; 2007.
 27. Ruiz-Roso B, Péres-Olleros L, García-Cuevas M. Influencia de la fibra dietaria (FD) en la biodisponibilidad de los nutrientes. *In:* Lajolo FM, Calixto FS, Penna EW, Menezes EW. Fibra dietética en iberoamérica: tecnología y salud. São Paulo: Varela; 2001.
 28. Vijaimohan K, Jainu M, Sabitha KE, Subramaniyam S, Anandhan C, Shyamala DCS. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sci.* 2006; 79(5):448-54. doi: 10.1016/j.lfs.2006.01.025.
 29. Morise A, Serougne C, Gripois D, Blouquit MF, Lutton C, Hermier D. Effects of dietary alpha-linolenic acid on cholesterol metabolism in male and female hamsters of the LPN strain. *J Nutr Biochem.* 2004; 15(1):51-61. doi: 10.1016/j.jnutbio.2003.10.002.

30. Murase T, Aoki M, Tokimitsu I. Supplementation with α -linolenic acid-rich diacylglycerol suppresses fatty liver formation accompanied by an up-regulation of β -oxidation in Zucker fatty rats. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1733(2-3):224-31. doi: 10.1016/j.bbaliip.2004.12.015.
31. Lemay A, Dodin S, Kadri N, Jacques H, Forest JC. Flaxseed dietary supplement versus hormone replacement therapy in hypercholesterolemic menopausal women. *Obst Gynecol*. 2002; 100(3):495-504. doi: 10.1016/S0029-7844(02)02123-3.
32. Bhathena SJ, Ali AA, Haudenschild C, Latham P, Ranich T, Mohamed AI, *et al*. Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. *J A Coll Nutr*. 2003; 22(2):157-64.
33. Chang NW, Wu CT, Chen FN, Huang PC. High polyunsaturated and monounsaturated fatty acid to saturated fatty acid ratio increases plasma very low density lipoprotein lipids and reduces the hepatic hypertriglyceridemic effect of dietary cholesterol in rats. *Nutr Res*. 2004; 24(1):73-83. doi: 10.1016/j.nutres.2003.09.002.
34. Lucas EA, Lightfoot SA, Hammond LJ, Devareddy L, Khalil DA, Daggy BP, *et al*. Flaxseed reduces plasma cholesterol and atherosclerotic lesion formation in ovariectomized Golden Syrian hamsters. *Atherosclerosis*. 2004; 173(2):223-9. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2003.12.032.
35. Abdel-Rahman MK, Mahmoud EM, Abdel-Moemin AR, Rafaat OGA. Re-evaluation of individual and combined garlic and flaxseed diets on hyperlipidemic rats. *Pak J Nutr*. 2009; 8(1):1-8. doi: 10.3923/pjn.2009.1.8.
36. Harris WS. N-3 fatty acids and serum lipoproteins: animal studies. *Am J Clin Nutr*. 1997; 65(5Suppl): 1611S-6S.
37. Kamimura MA, Baxmann A, Sampaio LR, Cuppari L. Avaliação nutricional. *In*: Cuppari, L. Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto. Barueri: Manole; 2002.
38. Mitruka BM, Rawnsley HM. Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals. New York: Masson Publishing; 1977.

Recebido em: 28/4/2009
 Versão final reapresentada em: 24/2/2010
 Aprovado em: 12/5/2010

