UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FCF/FEA/FSP

**Curso de Pós-Graduação Interunidades em Nutrição
Humana Aplicada**

**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE COCÇÃO NO
VALOR NUTRITIVO, QUALIDADE LIPÍDICA E
FORMAÇÃO DE ÓXIDOS DE COLESTEROL EM
LINGÜIÇAS CALABRESAS À VÁCUO E
GRANEL**

CLÁUDIA MOREIRA NERY CASTELLUCCI

**Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre
Orientadora: Prof^a. Assoc. Elizabeth A. F. S. Torres**

São Paulo

2004

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

C348i Castellucci, Cláudia Moreira Nery
Influência do método de cocção no valor nutritivo, qualidade
lipídica e formação de óxidos de colesterol em lingüiças calabresas
à vácuo e granel / Cláudia Moreira Nery Castellucci. -- São Paulo,
2004.
143p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da USP. Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade
da USP. Faculdade de Saúde Pública da USP. Curso Interunidades
em Nutrição Humana Aplicada.

Orientador: Torres, Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva

1. Carne : Ciência dos alimentos 2. Carne : Preservação :
Tecnologia de alimentos 3. Lipídio : Tecnologia de alimentos I. T.
II. Torres, Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva, orientador.

641.36 CDD

CLÁUDIA MOREIRA NERY CASTELLUCCI

**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE COCÇÃO NO VALOR
NUTRITIVO, QUALIDADE LIPÍDICA E FORMAÇÃO
DE ÓXIDOS DE COLESTEROL EM LINGÜIÇAS
CALABRESAS À VÁCUO E GRANEL**

Comissão Julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Assoc. Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres

Orientador/Presidente

1º Examinador

2º Examinador

São Paulo, 06 de 04 de 2004.

DEDICATÓRIA

**A Deus por estar aqui presente e
dando-me força e saúde, para mais
esta etapa da minha vida.**

**Aos meus pais Nelson e Lúcia,
que me ajudaram a construir o que
sou hoje e por todo o carinho, estímulo,
amor e incentivo em todas as horas.**

**À minha irmã Daniela mesmo longe
de casa, sempre me apoiando
e estimulando em tudo.**

**Ao meu marido Silvio, pelo infindável
apoio, ajuda, compreensão, carinho e
amor, dedicados a mim
que sem eles possivelmente não
teria terminado essa tese.**

**Ao meu filho Matheus, minha vida,
minha alegria e fonte inspiradora,
por toda a minha ausência o
meu grande e essencial amor
por tudo que tu és.**

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof. Assoc. Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres, que me conduziu até esse momento, e pelo apoio, compreensão, paciência e orientação. Obrigado pelo carinho que recebi quando meu filho nasceu e tive muitos problemas de saúde.

À Comissão de Pós-Graduação do Programa de Pós-Graduação Interunidades em Nutrição Humana Aplicada – PRONUT.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo

Ao Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo pela utilização dos maquinários para a realização deste trabalho.

Aos Professores Alfredo Tenuta Filho e Luiz Antonio Gioielli por suas sugestões no exame de qualificação.

À amiga Ana Luisa, novo membro da família, pela paciência e carinho.

À Prof. Deborah H. M. Bastos pelo carinho.

À Rosana e Yara que tanto ajudaram no suporte da parte laboratorial.

Aos colegas da FSP: Geni, Liania, José Pereira, José Bezerra, Karine, Paulinha, Serena, Agnes, Silvio e Carlos.

A Gianni por toda sua orientação estatística.

Às secretárias do Departamento de Nutrição da FSP.

Ao pessoal da secretaria da pós-graduação do PRONUT – Jorge e Elaine,
pelo suporte.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização
deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	X
Lista de Tabelas	XIII
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos	XVII
Resumo	XIX
Abstract	XXI
1. Introdução,	4
2. Revisão Bibliográfica,	5
2.1. Colesterol,	5
2.2. Óxidos de Colesterol,	6
2.2.1. Formação dos Óxidos de Colesterol,	10
2.2.1.1. Autoxidação,	10
2.2.1.2. Oxidação fotoquímica,	11
2.2.1.3. Peroxidação lipídica,	11
2.2.2. Metabolismo dos Óxidos de Colesterol,	12
2.2.3. Fatores Biológicos dos Óxidos de Colesterol,	15
2.2.3.1. Efeitos citotóxicos,	15
2.2.3.2. Influência aterogênica,	16
2.2.3.3. Influência mutagênica e carcinogênica,	18
2.2.4. Fatores que afetam a oxidação do colesterol,	19
2.2.4.1. Aquecimento/Processamento,	19
2.2.4.2. Armazenamento e Embalagem,	20
2.2.4.3. Efeito da irradiação,	20
2.2.5. Óxidos de Colesterol nos Alimentos,	21
2.3. Ácidos Graxos,	22
2.4. Malonaldeído,	24
2.5. Produtos cárneos,	27
2.6. Parâmetros para a validação de metodologias,	32
3. Justificativa,	33
4. Objetivos,	34
4.1. Objetivo geral,	34

4.2. Objetivos específicos,	34
5. Material e Métodos,	35
5.1. Material,.....	35
5.2. Reagentes e Solventes,	38
5.3. Métodos,.....	38
5.3.1. Composição Centesimal,.....	38
5.3.1.1. Umidade,	38
5.3.1.2. Proteína Bruta,	39
5.3.1.3. Cinzas,.....	39
5.3.1.4. Carboidratos e Valor Calórico (KCal e KJ),	39
5.3.2. Potencial hidrogeniônico (pH),	40
5.3.3. Atividade da Água (Aw (AA)),	40
5.3.4. Lipídios Totais,.....	40
5.3.5. Método para a determinação de TBA,.....	41
5.3.6. Ácidos graxos,.....	43
5.3.7. Colesterol e Óxidos de Colesterol,.....	43
5.3.8. Validação da Metodologia para o HPLC,.....	44
5.3.8.1. Recuperação,	44
5.3.8.2. Precisão,	45
5.3.8.3. Linearidade,	45
5.3.8.4. Limite de detecção e quantificação,	46
5.4. Análise Estatística,	46
6. Resultados,.....	47
6.1. Validação do Método de Quantificação do Colesterol e Óxidos de Colesterol,.....	47
6.2. Caracterização do Colesterol e Óxidos de Colesterol,.....	50
6.2.1. Umidade,.....	51
6.2.2. Proteína,.....	53
6.2.3. Cinzas,	55
6.2.4. Carboidratos,	57
6.2.5. KCal e KJ,.....	59
6.3. Valores de Aw (AA) e pH,	61

6.3.1. Aw (AA),	61
6.3.2. pH,	63
6.4. Valores de TBA (Malonaldeído),	64
6.5. Avaliação da Fração lipídica,	67
6.6. Caracterização do Colesterol e Óxidos de Colesterol,	70
6.6.1. Colesterol e Óxidos de Colesterol,	70
6.7. Perfil de Ácidos Graxos,	78
6.7.1. Ácido Graxo Saturado,	78
6.7.2. Ácido Graxo Insaturado,	80
6.7.3. Ácido Graxo Poliinsaturado,	81
6.7.4. Ácido Graxo Monoinsaturado,	83
6.7.5. Ômega 3,	85
6.7.6. Ômega 6,	87
6.7.7. Ômega 9,	88
7. Conclusão,	91
8. Lista de Figuras,	92
9. Referências Bibliográficas (Normas da Abnt *),	126

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do colesterol e dos óxidos de colesterol mais frequentes em alimentos (KUMAR <i>et al.</i>, 1991).	9
Figura 2: Esquema da origem, destino e efeitos biológicos dos produtos da oxidação do colesterol (OsC) no organismo humano.	14
Figura 3: Fluxograma das análises realizadas no laboratório	37
Figura 4: Cromatograma dos padrões de colesterol , 7-ceto, 25-OH, 7α-OH , 7β-OH	49
Figura 5: Gráfico da Interação entre Lote e Embalagem, segundo a umidade	92
Figura 6: Boxplot da Umidade, segundo Preparo	92
Figura 7: Boxplot da Umidade, segundo Supermercado	93
Figura 8: Boxplot da Proteína, segundo Embalagem	93
Figura 9: Boxplot da Proteína, segundo Lote	94
Figura 10: Boxplot da Proteína, segundo Preparo	94
Figura 11: Boxplot da Proteína, segundo Supermercado	95
Figura 12: Boxplot das Cinzas, segundo Lote	95
Figura 13: Boxplot das Cinzas, segundo Embalagem	96
Figura 14: Boxplot das Cinzas, segundo Preparo	96
Figura 15: Boxplot das Cinzas, segundo Supermercado	97
Figura 16: Gráfico da Interação entre Lote e Embalagem, segundo carboidratos	97
Figura 17: Gráfico da Interação entre Preparo e Embalagem, segundo carboidratos	98
Figura 18: Boxplot do Carboidrato, segundo Supermercado	98
Figura 19: Boxplot da KCal, segundo Embalagem	99
Figura 20: Boxplot da KCal, segundo Lote	99
Figura 21: Boxplot da KCal, segundo Preparo	100
Figura 22: Boxplot da KCal, segundo Supermercado	100
Figura 23: Boxplot do KJ, segundo Embalagem	101
Figura 24: Boxplot do KJ, segundo Lote	101

Figura 25: Boxplot do KJ, segundo Preparo	102
Figura 26: Boxplot do KJ, segundo Supermercado	102
Figura 27: Boxplot da Aw (AA), segundo Embalagem	103
Figura 28: Boxplot da Aw (AA), segundo Lote	103
Figura 29: Boxplot da Aw (AA), segundo Preparo	104
Figura 30: Boxplot da Aw (AA), segundo Supermercado	104
Figura 31: Gráfico da Interação entre Preparo e Embalagem, segundo pH	105
Figura 32: Gráfico da Interação entre Lote e Supermercado, segundo pH	105
Figura 33: Gráfico da Interação entre Embalagem e Lote, segundo TBA	106
Figura 34: Gráfico da Interação entre Embalagem e Supermercado, segundo TBA	106
Figura 35: Gráfico da Interação entre Supermercado e Lote, segundo TBA	107
Figura 36: Boxplot do TBA, segundo Preparo	107
Figura 37: Gráfico da Interação entre Lote e Supermercado, segundo Lipídio	108
Figura 38: Gráfico da Interação entre Lote e Embalagem, segundo Lipídio	108
Figura 39: Boxplot dos Lipídios, segundo preparo	109
Figura 40: Boxplot do Colesterol, segundo Embalagem	109
Figura 41: Boxplot do Colesterol, segundo Lote	110
Figura 42: Boxplot do Colesterol, segundo Preparo	110
Figura 43: Boxplot do Colesterol, segundo Supermercado	111
Figura 44: Gráfico da Interação entre Lote e Supermercado, segundo 25-OH	111
Figura 45: Boxplot do 25-OH, segundo Embalagem	112
Figura 46: Boxplot do 25-OH, segundo Preparo	112
Figura 47: Boxplot do Ácido Graxo Saturado, segundo Embalagem	113
Figura 48: Boxplot do Ácido Graxo Saturado, segundo Lote	113
Figura 49: Boxplot do Ácido Graxo Saturado, segundo Preparo	114
Figura 50: Boxplot do Ácido Graxo Saturado, segundo Supermercado	114
Figura 51: Boxplot do Ácido Graxo Insaturado, segundo Embalagem	115
Figura 52: Boxplot do Ácido Graxo Insaturado, segundo Lote	115
Figura 53: Boxplot do Ácido Graxo Insaturado, segundo Preparo	116

Figura 54: Boxplot do Ácido Graxo Insaturado, segundo Supermercado	116
Figura 55: Boxplot do Ácido Graxo Poliinsaturado, segundo Embalagem	117
Figura 56: Boxplot do Ácido Graxo Poliinsaturado, segundo Lote	117
Figura 57: Boxplot do Ácido Graxo Poliinsaturado, segundo Preparo	118
Figura 58: Boxplot do Ácido Graxo Poliinsaturado, segundo Supermercado	118
Figura 59: Gráfico da Interação entre Lote e Embalagem, segundo Ácido Graxo Monoinsaturado	119
Figura 60: Boxplot do Ácido Graxo Monoinsaturado, segundo Preparo	119
Figura 61: Boxplot do Ácido Graxo Monoinsaturado, segundo Supermercado	120
Figura 62: Boxplot do Ômega 3 (Série n-3), segundo Lote	120
Figura 63: Boxplot do Ômega 3 (Série n-3), segundo Preparo	121
Figura 64: Boxplot do Ômega 3 (Série n-3), segundo Supermercado	121
Figura 65: Boxplot do Ômega 3 (Série n-3), segundo Embalagem	122
Figura 66: Boxplot do Ômega 6 (Série n-6), segundo Embalagem	122
Figura 67: Boxplot do Ômega 6 (Série n-6), segundo Lote	123
Figura 68: Boxplot do Ômega 6 (Série n-6), segundo Preparo	123
Figura 69: Boxplot do Ômega 6 (Série n-6), segundo Supermercado	124
Figura 70: Gráfico da Interação entre Lote e Embalagem, segundo Ômega 9 (Série n-9)	124
Figura 71: Boxplot do Ômega 9 (Série n-9), segundo Preparo	125
Figura 72: Boxplot do Ômega 9 (Série n-9), segundo Supermercado	125

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Repetibilidade do colesterol e óxidos de colesterol em lingüiça calabresa (n=6) calculado pelo Coeficiente de Variação (%)	48
Tabela 2: Reprodutibilidade do colesterol e óxidos de colesterol em lingüiça calabresa (n=6) calculado pelo Coeficiente de Variação (%)	48
Tabela 3: Limites de detecção e quantificação do colesterol e óxidos de colesterol nas amostras de lingüiça calabresa (n=6)	48
Tabela 4: Correlação linear entre o conteúdo de colesterol e OsC e os valores medidos, dentro da faixa de concentração trabalhada	49
Tabela 5: Informação nutricional contida nos rótulos das lingüiças (porção de 60g)	50
Tabela 5A: Tabela da média de umidade e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem	51
Tabela 5B: Tabela da média de umidade segundo preparo	52
Tabela 5C: Tabela da média de umidade segundo supermercado	52
Tabela 6: Tabela da média de proteína segundo embalagem	53
Tabela 6A: Tabela da média de proteína segundo lote	54
Tabela 6B: Tabela da média de proteína segundo preparo	54
Tabela 6C: Tabela da média de proteína segundo supermercado	55
Tabela 7: Tabela da média de cinzas segundo embalagem	56
Tabela 7A: Tabela da média de cinzas segundo supermercado	56
Tabela 7B: Tabela da média de cinzas segundo preparo	56
Tabela 7C: Tabela da média de cinzas segundo lote	57
Tabela 8: Tabela da média de carboidrato e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem	58
Tabela 8A: Tabela da média de carboidratos segundo supermercado	58
Tabela 8B: Tabela da média de carboidrato e nível descritivo (p) segundo preparo e embalagem	59
Tabela 9: Tabela da média de KCal e KJ segundo embalagem	59
Tabela 9A: Tabela da média de KCal e KJ segundo lote	60
Tabela 9B: Tabela da média de KCal e KJ segundo supermercado	60

Tabela 9C: Tabela da média de KCal e KJ segundo preparo	61
Tabela 10: Valores de Aw (AA) segundo embalagem	61
Tabela 10A: Valores de Aw (AA) segundo lote	62
Tabela 10B: Valores de Aw (AA) segundo supermercado	62
Tabela 10C: Valores de Aw (AA) segundo preparo	63
Tabela 11: Tabela da média de pH e nível descritivo (p) segundo preparo e embalagem	63
Tabela 11A: Tabela da média de pH e nível descritivo (p) segundo lote e supermercado	64
Tabela 12: Tabela da média de TBA e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem	65
Tabela 12A: Tabela da média de TBA e nível descritivo (p) segundo supermercado e embalagem	65
Tabela 12B: Tabela da média de TBA e nível descritivo (p) segundo lote e supermercado	66
Tabela 12C: Valores de TBA segundo o preparo	66
Tabela 13: Tabela da média de Lipídios e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem	68
Tabela 13A: Valores de Lipídios segundo o preparo	68
Tabela 13B: Tabela da média de Lipídios e nível descritivo (p) segundo lote e supermercado	69
Tabela 14: Valores de Colesterol segundo o preparo	70
Tabela 14A: Valores de Colesterol segundo o tipo de embalagem	70
Tabela 14B: Valores de Colesterol segundo o supermercado	71
Tabela 14C: Valores de Colesterol segundo o lote	71
Tabela 15: Valores dos OsC segundo o tipo de embalagem	72
Tabela 15A: Valores dos OsC segundo o lote	72
Tabela 15B: Valores dos OsC segundo o preparo	73
Tabela 15C: Valores dos OsC segundo o supermercado	73
Tabela 16: Tabela da média de 25-OH e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem	74

Tabela 16A: Tabela da média de 25-OH e nível descritivo (p) segundo lote e supermercado	74
Tabela 16B: Valores de 25-OH segundo o preparo	75
Tabela 17: Valores de Ácidos Graxos Saturados segundo o tipo de embalagem	78
Tabela 17A: Valores de Ácidos Graxos Saturados segundo o lote	79
Tabela 17B: Valores de Ácidos Graxos Saturados segundo preparo	79
Tabela 17C: Valores de Ácidos Graxos Saturados segundo supermercado	79
Tabela 18: Valores de Ácidos Graxos Insaturados segundo o tipo de embalagem	80
Tabela 18A: Valores de Ácidos Graxos Insaturados segundo o lote	80
Tabela 18B: Valores de Ácidos Graxos Insaturados segundo o supermercado	81
Tabela 18C: Valores de Ácidos Graxos Insaturados segundo o preparo	81
Tabela 19: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo o preparo	81
Tabela 19A: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo o supermercado	82
Tabela 19B: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo o lote	82
Tabela 19C: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo a embalagem	83
Tabela 20: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo o preparo	83
Tabela 20A: Valores de Ácidos Graxos Monoinsaturados segundo supermercado	84
Tabela 20B: Tabela da média de Ácido Graxo Monoinsaturado e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem	84
Tabela 21: Valores de Ácidos Graxos Ômega 3 - Série n-3 - segundo o preparo	85
Tabela 21A: Valores de Ácidos Graxos Ômega 3 - Série n-3 - segundo o supermercado	86
Tabela 21B: Valores de Ácidos Graxos Ômega 3 - Série n-3 - segundo a embalagem	86

Tabela 21C: Valores de Ácidos Graxos Ômega 3 - Série n-3 - segundo os lotes	86
Tabela 22: Valores de Ácidos Graxos Ômega 6 - Série n-6 - segundo a embalagem	87
Tabela 22A : Valores de Ácidos Graxos Ômega 6 - Série n-6 - segundo o preparo	87
Tabela 22B: Valores de Ácidos Graxos Ômega 6 - Série n-6 - segundo o supermercado	87
Tabela 22C: Valores de Ácidos Graxos Ômega 6 - Série n-6 - segundo o lote	88
Tabela 23: Valores de Ácidos Graxos Ômega 9 - Série n-9 - segundo o supermercado	89
Tabela 23A: Valores de Ácidos Graxos Ômega 9 - Série n-9 - segundo o preparo	89
Tabela 23B: Tabela da média de Ácido Graxos Ômega 9 - Série n-9 e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem	89

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AG	Ácidos Graxos
Aw (AA)	Atividade de água
CG	Cromatografia Gasosa
CETP	Proteína colesterol acil éster transferase (“cholesterol éster acyltransferase protein”)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase
HPLC	Cromatógrafo líquido de alto desempenho
LCAT	Lecitina colesterol acil transferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MDA	Malonaldeído
MUFA	Ácido Graxo Monoinsaturado
OsC	Óxidos de Colesterol
PUFA	Ácido Graxo Poliinsaturado
QM	Quilomicrons
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
PGI ₂	Prostaglandina I ₂
α -CE	α -epoxicoolesterol
Colesterol	Colest-5-eno-3 β -ol
7-ceto	7-cetocolesterol
6-Ceto	6-cetocolesterol
7 α -OH	7 α -hidroxicoolesterol
7 β -OH	7 β -hidroxicoolesterol
5,6 α -EP	5,6 α -epoxicoolesterol
5,6 β -EP	5,6 β -epoxicoolesterol
Triol	Colestanotriol
7 α -OOH	7 α -hidroperoxicoolesterol
7 β -OOH	7 β -hidroperoxicoolesterol
20-OOH	20-hidroperoxicoolesterol

25-OOH	25-hidroperoxicolesterol
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
$^3\text{O}_2$	Oxigênio triplete
5-OOH	5-hidroperoxicolesterol
6-OOH	6-hidroperoxicolesterol
7-OOH	7-hidroperoxicolesterol

RESUMO

CASTELLUCCI, C.M.N. **“Influência do método de cocção no valor nutritivo, qualidade lipídica e formação de óxidos de colesterol em Lingüiças Calabresas à vácuo e granel”**. São Paulo; 2004 [Dissertação de Mestrado – FCF-FEA-FSP/USP]

Os óxidos de colesterol estão presentes em diversas preparações alimentares, especialmente aquelas que contêm altos níveis de colesterol (exemplo: ovo, leite, carne e produtos marinhos). A formação de óxidos de colesterol é influenciada pelo calor (especialmente por um período muito longo), oxigênio, luz e UV, atividade de água, presença de ácidos graxos insaturados. Dentre os diferentes produtos cárneos existentes, temos os embutidos, ou carnes preparadas embutidas. A procura por produtos cárneos com menores taxas de oxidação e mais saudáveis é uma preocupação mundial. O efeito do processamento térmico dos alimentos sobre a formação dos óxidos de colesterol vem sendo investigado. Evidências sugerem que o tempo e a temperatura são fatores determinantes neste processo, influenciando diretamente na taxa de oxidação de colesterol. A presente pesquisa teve por objetivo: avaliar o valor nutritivo, qualidade lipídica e formação de óxidos de colesterol em Lingüiças Calabresas à vácuo e granel. Os valores médios de umidade, proteínas e minerais (cinzas) foram determinados, quantitativamente, conforme metodologia do ADOLFO LUTZ (1985) e AOAC (1995). Os valores de carboidratos foram determinados por diferença utilizando coeficientes para KCal e KJ (WATT & MERRILL, 1963, SLIMANI *et al.*, 2000). Para a determinação dos lipídios totais utilizou-se a metodologia de MARMER & MAXWELL (1981). Para quantificar o TBA seguiu-se o método de TARLADGS *et al.* (1964), modificado por CRACKEL *et al.* (1988), adaptado por TORRES & OKANI (1997). Os ácidos graxos foram determinados seguindo MARMER & MAXWELL (1981) e MORRISON & SMITH (1974). O colesterol e óxidos de colesterol foram determinados seguindo os passos de MARMER & MAXWELL (1981), CSALLANY *et al.* (1989) e CHEN & CHEN (1994). Para a validação da metodologia para o HPLC foram realizados ensaios de recuperação, precisão, linearidade, limite de detecção e quantificação. Para a análise estatística foi realizado média, desvio padrão, análise de variância e complementada com comparações múltiplas de Bonferroni utilizando o Software SPSS. Os resultados obtidos das análises realizadas foram que o tipo de preparo influenciou no teor de umidade das lingüiças (crua – 65,47g; frita – 53,65, grelhada 58,31g). As amostras da embalagem a vácuo (22,91g) apresentaram maior quantidade de proteína que as amostras da embalagem a granel (20,25g). Os valores de carboidratos não variaram em função da amostra ser da embalagem a vácuo ou granel. As amostras mais calóricas foram as fritas (242,89 KCal ou 1195,22 KJ) seguida pelas amostras grelhadas (212,41 KCal ou 1083,55 KJ). Não se observou variação da atividade de água nas amostras entre as embalagens estudadas. O tipo de preparo provocou alterações nos valores de TBA, mas não promoveu sabor rancificado nas amostras (crua – 0,06 mgMA/Kg, frito – 0,08mgMA/Kg e grelhado – 0,143mgMA/Kg). O teor de lipídios e colesterol não sofreram alterações em função do tipo de preparo. Os óxidos de colesterol 7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH somente apresentaram traços em todas as variáveis analisadas (preparo, lote, embalagem e procedência). O óxido 25-OH apareceu em todas as preparações, crua (3,05 μ g/g), frito (3,76 μ g/g) e grelhado

(2,14µg/g). Os resultados mostraram que as amostras da embalagem vácuo apresentavam quantidade média de 25-OH menor que as da embalagem a granel. As amostras da embalagem a vácuo apresentaram o seguinte perfil de ácidos graxos: 51,04% de saturados e 48,96% de insaturados, enquanto que as amostras da embalagem granel apresentaram 38,18% de saturados e 61,82% de insaturados. Os resultados permitiram concluir que: a) o teor de umidade, proteína, cinzas, carboidratos, calorias, Aw (AA) e pH sofreram alterações quando submetidos aos 3 tipos de preparo e tipo de embalagem; b) os valores obtidos para TBA indicam que as amostras não apresentavam rancidez quando crua e após os vários preparos; c) as lingüiças apresentaram somente traços de 7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH; d) as amostras de lingüiças calabresas quando submetidas a diversos métodos de cocção apresentaram diferentes concentrações de 25-OH; e) a quantidade de 25-OH variava de acordo com o tipo de processamento e este se tornava mais oxidado quando submetido ao processo de fritar; f) as amostras provenientes da embalagem a granel apresentaram maiores valores de 25-OH; g) o perfil de ácidos graxos não apresentou variação quando as amostras eram submetidas a diferentes preparos; h) as amostras da embalagem a vácuo apresentavam mais ácidos graxos saturados e as amostras da embalagem a granel apresentavam mais ácidos graxos insaturados.

Descritores: lingüiça, valor nutritivo, colesterol, óxidos de colesterol, ácidos graxos

ABSTRACT

CASTELLUCCI, C.M.N. **“Influência do método de cocção no valor nutritivo, qualidade lipídica e formação de óxidos de colesterol em Linguiças Calabresas à vácuo e granel”** [Influence of the cooking method in the nutritious value, lipid quality and formation of cholesterol oxides in Linguiças Calabresas to vacuum and bulk packaging] São Paulo (BR); 2004 [Dissertação de Mestrado – FCF-FEA-FSP/USP]

The cholesterol oxides are present in several alimentary preparations, especially those that contain high cholesterol levels (example: egg, milk, meat and marine products). The formation of cholesterol oxides is influenced by the heat (especially for a very long period), oxygen, shines and UV, activity of water, presence of unsaturated fatty acids. Among the different meat products, we have the sausages, or built-in prepared meats. The search for meat products with smaller oxidation rates and healthier it is a world concern. The effect of the thermal processing of the victuals about the formation of the cholesterol oxides comes being investigated. Evidences suggest that the time and the temperature are decisive factors in this process, influencing directly in the rate of cholesterol oxidation. The present research had for objective: to evaluate the nutritive values, lipid quality and formation of cholesterol oxides in ‘Linguiças Calabresas’ to vacuum and bulk packaging. The medium values of moisture, proteins and minerals (ash) were determinated, quantitatively, according to methodology of ADOLFO LUTZ (1985) and AOAC (1995). The carbohydrates values were certain for difference using coefficients for KCal and KJ (WATT & MERRILL, 1963, SLIMANI *et al.*, 2000). For the determination of the lipids the methodology of MARMER & MAXWELL (1981) was used. To quantify TBA the method of TARLADGS *et al.* was proceeded (1964), modified by CRACKEL *et al.* (1988), adapted by TOWERS & OKANI (1997). The fatty acids was certain following MARMER & MAXWELL (1981) and MORRISON & SMITH (1974). The cholesterol and cholesterol oxides were certain following the steps of MARMER & MAXWELL (1981), CSALLANY *et al.* (1989) and CHEN & CHEN (1994). For the validation of the methodology for HPLC recovery, precision, linearity, detection limit and quantification were accomplished. For the statistical analysis average, standard deviation, was accomplished variance analysis and complemented with multiple comparisons of Bonferroni using the Software SPSS. The obtained results of the accomplished analyses were that the type of prepare influenced in the moisture of the linguiças (raw - 65,47g; fried - 53,65, grilled - 58,31g). The samples of the vaccum packaging (22,91g) presented larger amount of protein than the samples of the bulk packaging (20,25g). The carbohydrates values didn't vary in function of the sample to be of the vacuum or bulk packaging. The most calorific samples were the fried ones (242,89 KCal or 1195,22 KJ) followed by the grilled samples (212,41 KCal or 1083,55 KJ). The variation of the activity of water was not observed in the samples among the studied packagings. The type of prepare promoved alterations in the TBA values, but it didn't promote rancidity flavor in the samples (raw - 0,06 mgMA/Kg, fried - 0,08mgMA/Kg and grilled - 0,143mgMA/Kg). The lipidis and cholesterol didn't suffer alterations in function of the type of prepare. The cholesterol oxides 7-ceto,

7 α -OH, 7 β -OH only presented lines in whole the analyzed variables (prepare, lot, packaging and origin). The oxide 25-OH appeared in all the preparations, raw (3,05 μ g/g), fried (3,763 μ g/g) and grilled (3,11 μ g/g). The results showed that to the samples of the bulk packaging presented larger medium amount of 25-OH than the one of the vaccum packaging. The samples of the vaccum packaging presented the following profile of fatty acids: 51,04% saturated and 48,96% of unsaturated, while the samples of the bulk packaging presented 38,18% saturated and 61,82% unsaturated. The results allowed that: a) moisture, protein, ash, carbohydrates, energy value, Aw (AA) and pH suffered alterations when submitted to the 3 types of prepare and packaging type; b) the values obtained for TBA indicate that the samples didn't present rancidity flavor when raw and after the several prepares; c) the lingüiças presented only lines of 7-ceto, 7 α -OH, 7 β -OH; d) the samples of Linguiça Calabresa when submitted to several cooking methods they presented different concentrations of 25-OH and the amount of 25-OH varied in agreement with the processing type and this became oxidized when submitted to the frying process; f) the samples of the bulk packaging presented larger values of 25-OH; g) the profile of fatty acids didn't present variation when the samples were submitted the different prepares; h) the samples of the vaccum packaging presented more saturated fatty acids and the samples of the bulk packaging presented more unsaturated fatty acids.

Descriptors: lingüiça, nutritive value, cholesterol, cholesterol oxides, fatty acids

INTRODUÇÃO

1. Introdução

O colesterol encontra-se distribuído nos tecidos animais como principal esterol, desempenha funções estruturais e funcionais. O colesterol é sintetizado pelo corpo e atua em processos metabólicos normais. Ele é encontrado na fração lipídica de tecidos animais e pode ocorrer junto com as proteínas como lipoproteínas.

O colesterol e seus ésteres com ácidos graxos (AG) de cadeias longas são componentes importantes das lipoproteínas plasmáticas e da membrana celular externa. Por ser um lipídio insaturado, o colesterol é instável e portanto sujeito à oxidação.

Os óxidos de colesterol estão presentes em diversas preparações alimentares, especialmente aquelas que contêm altos níveis de colesterol (exemplo: ovo, leite, carne e produtos marinhos). A formação de óxidos de colesterol é influenciada pelo calor (especialmente por um longo período), oxigênio, luz e UV, atividade de água, presença de ácidos graxos insaturados.

O efeito do processamento térmico dos alimentos sobre a formação dos óxidos de colesterol vêm sendo investigados. Evidências sugerem que a temperatura e o tempo do processamento são fatores muito importantes neste processo.

A carne e seus produtos são componentes essenciais da dieta de países desenvolvidos. É considerada do ponto de vista nutricional como um alimento altamente complexo e importante fonte de proteínas, lipídios, colesterol e sais minerais.

Dentre os diferentes produtos cárneos existentes, temos os embutidos, ou carnes preparadas embutidas. A procura por produtos cárneos com menores taxas de oxidação e mais saudáveis é uma preocupação mundial.

Poucos dados foram encontrados na bibliografia pesquisada sobre as concentrações de óxidos de colesterol em linguiças calabresas submetidas a preparos e embalagens diferentes. Foram encontrados dados sobre linguiças submetidas a atmosferas diferentes e algum tipo de preparo.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Colesterol

Os esteróides são moléculas complexas, solúveis nas gorduras, com 4 anéis fundidos e os mais abundantes são os álcoois de esteróides. O colesterol é o principal esterol nos tecidos animais (LEHNINGER, 1984). As moléculas do colesterol são núcleos policíclicos com 4 anéis ligados, uma cadeia lateral alifática ramificada, ligada ao C-17 do anel D, um grupo hidroxila β - ligado ao C-3 do anel A e uma dupla ligação entre o C-5 e o C-6 do anel B. Esta dupla ligação coloca o C-4 do anel A e o C-7 do anel B ambos na mesma posição (TAI *et al.*, 1999).

O colesterol é sintetizado pelo corpo e atua em processos metabólicos normais. Somente alimentos de origem animal contêm quantias significativas de colesterol. Têm-se encontrado traços de colesterol em algumas plantas. Ele é encontrado na fração lipídica de tecidos animais e pode ocorrer junto com as proteínas como lipoproteínas (FEELEY *et al.*, 1972). O colesterol e seus ésteres com ácidos graxos (AG) de cadeias longas são componentes importantes das lipoproteínas plasmáticas e da membrana celular externa (LEHNINGER, 1984).

A síntese de colesterol se dá na fração microssômica das células. A acetil-CoA é a fonte de todos os átomos de carbono que formam a estrutura polinuclear do colesterol (SGARBIERI, 1987).

Segundo SANTOS & SANTOS (1982) a molécula do colesterol é sintetizada a partir de três moléculas de acetil-CoA. A síntese hepática do colesterol é controlada pela quantidade de colesterol absorvido pela dieta e é influenciada pela disponibilidade de ácidos biliares que influenciam a absorção da gordura.

O colesterol é precursor de várias substâncias de importância vital como a vitamina D, os sais biliares, os estrógenos, a aldosterona, o cortisol entre outras e, a maior parte do colesterol do organismo origina-se da síntese (cerca de 1g/dia). O fígado, o córtex adrenal, a pele, os intestinos, os testículos e a aorta são tecidos notoriamente capazes de sintetizar o colesterol (HARPER *et al.*, 1982). Entretanto, as altas concentrações de colesterol no sangue são largamente relacionados com o aumento da incidência de acidentes vasculares. Apesar do aumento dos níveis de

colesterol sérico sofrer influência de uma série de fatores (estresse, tabagismo, baixa atividade física e fatores genéticos, entre outros), o consumo moderado do mesmo deve ser feito (MAHAN, 1998).

A recomendação diária para colesterol, de acordo com o WHO (World Health Organization, 1982) é de no máximo 300mg, no entanto o COMA (Committee on Medical Aspects, 1984) não faz recomendação específica.

Por ser um lipídio insaturado e instável o colesterol está sujeito a oxidação que pode ser endógena (enzimática – ocorre no organismo vivo, predominantemente no fígado e nos tecidos geradores de hormônios esteróides) ou exógenas (não enzimática – sofre ação de agentes como oxigênio, calor, radiação, radicais livres e metais pró-oxidantes como o ferro e o cobre), possibilitando a formação de diversos derivados, também chamados oxisteróis que são biologicamente ativos e apresentam efeitos tóxicos, citotóxicos, aterogênicos, mutagênicos e carcinogênicos (MORALES-AIZPURÚA *et al.*, 2002; MOURA, 1999).

Relata-se que a oxidação do colesterol é similar a oxidação lipídica, i.e., pode ser iniciada na presença de oxigênio (ar), a elevadas temperaturas ou sob luz resultando na autooxidação ou oxidação fotoquímica. A autooxidação de AG insaturado tais como o ácido oléico pode ser iniciada no C-8 ou C-11, enquanto a autooxidação do colesterol pode ser iniciada no C-7. Por causa da estrutura do anel do colesterol, os produtos da oxidação dos lipídios podem ser mais complexos que o colesterol. Desde que o colesterol contenha fosfolipídio, AG e estejam associados intimamente como parte integrante da lipíde biliar da membrana celular, o hidroperóxido derivado dos AG insaturados desempenha papel importante em facilitar a oxidação do colesterol (TAI *et al.*, 1999). (Figura 1)

2.2. Óxidos de Colesterol

Os óxidos de colesterol (**OsC**) são um grupo de esteróis similares em estrutura ao colesterol. Apresentam em comum a estrutura básica do núcleo ciclopentano-per-hidro-fenatreno, formado por 4 anéis condensados de hidrocarboneto (A-D), com caráter apolar e insolúvel em água, e uma cadeia lateral ramificada de hidrocarboneto unida ao C-17 do núcleo esteroidal, também apolar e

insolúvel em água. O grupo hidroxila no C-3 do anel A, em configuração β -, de caráter polar, confere alguma afinidade com o meio aquoso e capacidade de esterificação com AG, convertendo-se, neste caso, em totalmente insolúvel. O colesterol apresenta uma dupla ligação entre o C-5 e C-6 do anel B, que o torna suscetível à oxidação (MAERKER, 1987; OLIVEIRA & QUINTÃO, 1992; GUARDIOLA *et al.*, 1995; MOREL & LIN, 1996; SMITH, 1996).

Os OsC possuem grupos funcionais (álcool, cetona e epóxi) adicionais à molécula do colesterol, sobre o núcleo esteróide e sobre a cadeia lateral conferindo-lhes maior polaridade (MAEKER, 1987; GUARDIOLA *et al.*, 1995; MOREL & LIN, 1996; SMITH, 1996). Essas diferenças estruturais (grupos funcionais e sua posição) conferem aos OsC propriedades muito importantes, que definem em alguns casos, o tipo e a intensidade do efeito biológico (CRASTES DE PAULET *et al.*, 1988; PENG *et al.*, 1991).

A oxidação do colesterol pode ser iniciada pela abstração do hidrogênio, predominantemente no C-7, seguido pela adição de uma molécula de oxigênio, o que induz a formação de 7α -hidroperoxicolesterol (7α -OOH) ou 7β -hidroperoxicolesterol (7β -OOH), o produto primário da oxidação durante o aquecimento (TAI *et al.*, 1999).

A formação de OsC é influenciada pelo calor (especialmente por um longo período), oxigênio, luz e UV, atividade de água, presença de ácidos graxos insaturados, radiações, radicais livres, agentes sensibilizantes, íons metálicos, pH e outros fatores. Tratamentos tecnológicos podem aumentar a oxidação do colesterol (exemplo: fritura) (MORALES-AIZPURÚA *et al.*, 2002).

Mais de 80 OsC têm sido identificados até agora, e os mais comuns em alimentos incluem: 7-cetocolesterol (7-ceto), 6-cetocolesterol (6-ceto), 7α -hidroxicolesterol (7α -OH), 7β -hidroxicolesterol (7β -OH), 5,6 α -epoxicolesterol (5,6 α -EP), 5,6 β -epoxicolesterol (5,6 β -EP), 25-hidroxicolesterol (25-OH), 20-hidroxicolesterol (20-OH) e colestano-3 β ,5 α ,6 β -triol (triol) (TAI *et al.*, 1999). (Figura 1)

O 5 α -colestano-3 β ,5 α ,6 β -triol e 25-hidroxicolesterol demonstraram ser aterogênicos, enquanto o α -epoxicolesterol é suspeito de ser carcinogênico (DIONISI *et al.*, 1998).

Assim como os AG, o colesterol também sofre oxidação lipídica, isto é, pode ser iniciada na presença de oxigênio (ar), elevada temperatura ou sob luz resultam na autooxidação ou oxidação fotoquímica (TAI *et al.*, 1999). Estas moléculas caracterizadas pela presença de um núcleo ciclopentano-per-hidro-fenatreno sofrem ataques de radicais de oxigênio que provocam a abstração de um átomo de hidrogênio do carbono 7 (próximo a insaturação), dando origem a dois 7-hidroperóxidos epiméricos (DONNELLY & ROBINSON, 1995). Tais epímeros termicamente instáveis acabam por originar 7-hidroxicolesteróis e 7-cetocolesterol que foram detectados por (TORRES, 1987; TORRES *et al.*, 1989; ENGESETH & GRAY, 1994). Epóxidos, colestenonas e colestanodióis também são formados em carnes (HIGHLEY *et al.*, 1986a; TORRES, 1987; TORRES *et al.*, 1989; ENGESETH & GRAY, 1994).

Figura 1: Estrutura química do colesterol e dos óxidos de colesterol mais frequentes em alimentos (KUMAR *et al.*, 1991).

I. Colesterol	II. 20 α -hidroxi-	III. 25-hidroxi-	IV. 5 α ,6 α -epoxi-
V. 5 β ,6 β -epoxi-	VI. Triol	VII. 7 β -hidroxi	VIII. 7-ketone
IX. 3,5-dien-7-um	X. 7 α -hidroxi		

2.2.1. Formação dos Óxidos de Colesterol

2.2.1.1. Autooxidação - O estado físico do colesterol influencia o tipo de produto formado na autooxidação do colesterol. Quando o colesterol está no estado cristalino ou na presença de ar, a reação de oxidação é governada pelo rearranjo das moléculas no cristal. As moléculas de colesterol são arranjadas em camadas duplas com o grupo hidroxila C-3 em justaposição e a cadeia lateral de carbono fica exposta (PANLANGVAIT *et al.*, 1995). A autooxidação no estado sólido cristalino ocorre principalmente nos C-20, C-25 e C-26, na cadeia lateral, enquanto no estado líquido, quando então os anéis do núcleo esteróide giram mais livremente, ocorrem nos C-5, C-6 e C-7 do anel B (MORALES-AIZPURÚA *et al.*, 2002). A oxidação da cadeia lateral ocorre na fase sólida ou na forma cristalina do colesterol. O ataque oxidativo na posição terciária do C-20 e C-25 originam 20-OOH e 25-OOH, respectivamente. Estes hidroperóxidos podem degradar em 20-OH e 25-OH, os quais são mais estáveis e podem suportar aquecimento consecutivo a 100°C por 6 meses (TAI *et al.*, 1999).

A oxidação do colesterol pode ser iniciada pela abstração do hidrogênio, predominantemente no C-7, seguido pela adição de uma molécula de oxigênio, o qual conduz a formação de 7 α -OOH ou 7 β -OOH, o produto primário da oxidação do colesterol durante aquecimento. A redução de 7 α - e 7 β -OOH favorece a formação de 7 α - e 7 β -OH, os quais são comuns em alimentos. Ambos 7-OOH isoméricos podem sofrer desidratação durante aquecimento para a forma de 7-ceto, o qual é também o maior produto da autooxidação do colesterol em alimentos. Em adição, o 7-ceto pode ser formado através da desidratação de 7-OH isomérico na presença de radicais. Sob condições básicas, 7-ceto pode ser convertido para 3,5-colestadien-7-ona e outros compostos. Os 5,6 α -EP ou 5,6 β -EP, podem ser formados quando o colesterol é submetido a autooxidação em pH 8 por 3 horas. Contudo, com o ataque direto do colesterol pelo oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) ou triplete ($^3\text{O}_2$), somente hidroperóxidos, mas não epóxidos, são formados. Durante a autooxidação, os epóxidos são formados quando o colesterol está no estado cristalino, em solução ou em dispersão. Em adição, a interação entre o colesterol e 7-OOH ou 5-hidroperoxi-6-ona em clorofórmio causa a formação de 5,6-EP em menor quantidade. Pesquisadores

relataram que a razão entre 5,6 α -EP/5,6 β -EP era influenciada pelo pH da dispersão, desde que o β -epóxido fosse hidrolisado mais rápido que o α -epóxido (TAI *et al.*, 1999; MAERKER & BUNICK, 1986; MAERKER, 1987).

2.2.1.2. Oxidação fotoquímica - Na oxidação fotoquímica o $^1\text{O}_2$, espécie gerada por energia fotoquímica, é o responsável pelo início da reação (GUARDIOLA *et al.*, 1995). Fotosensitizadores tais como clorofila e hematoporfirina podem absorver energia na forma de radiação e transferir este para o $^3\text{O}_2$ então mais $^1\text{O}_2$ ativo é formado. O $^1\text{O}_2$ então reage com a dupla ligação do anel do colesterol, resultando na migração de uma dupla ligação e formação de 5-OOH. O 5-OOH pode ser então convertido para o mais estável 7-OOH ou 6-OOH, os quais estão presentes em menor quantidades. Irradiação do 7-ceto em dispersão aquosa resulta na formação de 7-cetocolesterol, indicando que a hidrogenação pode ocorrer através da interação entre 7-ceto e produtos da água. Contudo, com o aumento da incidência da luz intensa, ambos os 5,6-EP e 7-OH isoméricos podem promover a conversão para 6-ceto e 7-ceto, respectivamente (TAI *et al.*, 1999; MAERKER, 1987).

2.2.1.3. Peroxidação lipídica – Neste processo o colesterol é oxidado por hidroperóxidos ou peróxidos cíclicos, produzidos durante a oxidação dos lipídios, com intervenção de enzimas, originando os OsC no anel B do colesterol: 7 α -OH, 7 β -OH, 7-ceto, 5,6 α -EP, 5,6 β -EP e triol (GUARDIOLA *et al.*, 1995).

SMITH (1981) sugeriu que hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) formados durante a oxidação lipídica podem ser necessários para iniciar a oxidação do colesterol; e postulou que a oxidação do colesterol em alimentos e sistemas biológicos pode ser intermolecular ou intramolecular. Em sistemas intermoleculares, o hidrogênio é extraído do colesterol dos radicais oxi ou peroxi de PUFAs (fosfolipídios) localizados na membrana celular. No sistema intramolecular, a porção oxidada do acil ataca a porção colesterol da mesma molécula do éster de colesterol.

Os oxisteróis 7-OH, 7-ceto, 5,6-EP e triol (esterificado) são produtos da oxidação do éster de colesterol. Oxidação no C-20 e C-25 também são possíveis (PANLANGVAIT *et al.*, 1995).

2.2.2. Metabolismo dos Óxidos de Colesterol

Em relação à alimentação humana, a ingestão de lipídios oxidados tem aumentado consideravelmente em função dos avanços tecnológicos, do consumo cada vez maior de lanches e do aumento dos prazos de validade dos alimentos (VINE *et al.*, 1997).

Os **OsC** podem entrar na circulação sanguínea como contaminantes, por intermédio dos alimentos, por meio da peroxidação das lipoproteínas, ou gerados por reações enzimáticas. Entretanto, a contribuição dos **OsC** presentes na dieta em relação aos encontrados no plasma ainda é um aspecto pouco claro, sendo fundamental o conhecimento da biodisponibilidade de cada óxido para a sua avaliação toxicológica (LINSEISEN *et al.*, 1998b).

Os **OsC** se encontram distribuídos nas células e tecidos, e seus efeitos biológicos podem ser alterados pelo seu metabolismo e propriedades físico-químicas. Vários estudos realizados com ratos, coelhos e macacos indicam que os **OsC** da dieta podem ser absorvidos pelo intestino e são encontrados nos quilomicrons (**QM**) e outras lipoproteínas (LISEISEN *et al.*, 1998a).

O mais importante conceito sobre a relevância fisiológica dos **OsC** é a questão do seu destino metabólico. Os **OsC** podem sofrer um rápido e eficiente metabolismo com secreção biliar e excreção fecal, deste modo não interferindo muito na saúde. Entretanto, os **OsC** podem ser distribuídos dentro dos tecidos e células, onde o metabolismo e as propriedades físico-químicas podem ser alterados resultando em danos à saúde (LINSEISEN *et al.*, 1998a).

A síntese do ácido biliar no fígado ocorre através do 7 α -hidroxilação do colesterol e assim como a formação do ácido cólico e quenodeoxicólico. As células Kupffer (macrófagos hepáticos) podem agir como mediadores importantes para o transporte dos ésteres de **OsC** na forma oxLDL para as células parenquimais do fígado, onde sofre hidrólise e oxidação, formando 7 α -hidroxi-3-oxo- Δ^4 (ZHANG *et al.*, 1995).

Para o colesterol administrado na forma pura, a absorção atingiu 67%, contrastando com o valor de 30% verificado para o total dos **OsC**. As variações na

absorção dos **OsC** interferem na absorção do colesterol, por um mecanismo desconhecido até o presente. No entanto sendo a esterificação uma etapa importante na absorção do colesterol, a redução da absorção dos **OsC** poderia ser causada por menor suscetibilidade de esterificação nas células da mucosa do intestino delgado. Isso ocorreria pelo impedimento dos grupos álcool, cetônico e/ou epóxi, por meio do aumento da polaridade em relação ao colesterol, o que pode interferir na formação de micelas, além do efeito citotóxico dos **OsC** (MORALES-AIZPURÚA *et al.*, 2002).

De acordo com LINSEISEN *et al.* (1998b), uma vez absorvidos, os **OsC** de colesterol livres (ligados à albumina) e esterificados (associados a lipoproteínas) servem como substrato para a **LCAT** e **CETP**. Em um intervalo de 9 horas, o aumento da **VLDL-COP** (very low density lipoprotein – cholesterol oxidation products) foi visível enquanto que outras lipoproteínas não foram afetadas. Este fato pode sugerir a ação do fígado para a incorporação do quilomicron-COP nas **VLDL**. É possível que a eliminação dos **OsC** ocorra através da transformação a ácidos biliares ou pela secreção direta na bile, sendo este, parte do mecanismo de redução da concentração dos mesmos no plasma.

A recuperação do colesterol e **OsC**, administrados na forma pura, foi avaliada em relação aos **QM** e **VLDL**. Os resultados encontrados indicaram a presença de 35% de colesterol nos **QM** e 48% nas **VLDL**, enquanto os **OsC** foram detectados em 54% e 40%, respectivamente. Foi observado a mesma relação quando realizados com humanos (OSADA *et al.*, 1994; LISEISEN *et al.*, 1997).

Uma vez incorporados aos **QM** e transportados pelo sistema linfático para a corrente sanguínea, os **OsC** absorvidos através da dieta agregam-se aos **OsC** endógenos. Existem evidências que os **OsC** no organismo são facilmente suscetíveis a esterificação, que regula a associação do colesterol e **OsC** com as proteínas do plasma e influencia sua distribuição nas células e tecidos. Os **OsC** esterificados podem ser encontrados em todas as lipoproteínas do plasma, enquanto que o colesterol e **OsC** livres são mais associados à albumina, conseqüentemente mais disponível em relação à célula (MORALES-AIZPURÚA *et al.*, 2002). (Figura 2)

EMANUEL *et al.* (1991) foram os primeiros a administrar refeições ricas em **OsC** em humanos. Eles ofereceram ovo em pó e encontraram níveis máximos de **OsC** no plasma e **QM** entre 2 e 4 horas após administração.

LISEISEN *et al.* (1997) avaliaram os níveis de **OsC** através do consumo de parmesão e salame e observaram um aumento da concentração de **OsC** no plasma não esterificado com picos após 3 e 5 horas da ingestão, entretanto o aumento significativo dos níveis de **OsC** no plasma foi após 6 e 8 horas, indicando que a absorção dos **OsC** é comparável a absorção do colesterol.

Figura 2: Esquema da origem, destino e efeitos biológicos dos produtos da oxidação do colesterol (**OsC**) no organismo humano.

Fonte: LINSEISEN *et al.*, (1998a)

2.2.3. Fatores Biológicos dos Óxidos de Colesterol

Os **OsC** revelam diversos efeitos biológicos a nível celular. Primeiro, muitos **OsC** são capazes de modular a biossíntese, esterificação, consumo e fluxo do colesterol. Mais proeminente é seu efeito inibitório sobre a HMG-CoA redutase, permitindo a síntese do colesterol endógeno. Supõe-se que esta ação seja modulada pelo aumento da degradação da proteína ou inibição da síntese da enzima. A substituição do colesterol pela molécula de **OsC** nas membranas altera a fluidez, permeabilidade, estabilidade e outras propriedades da membrana (LINSEISEN *et al.*, 1998a).

Os **OsC**, além de facilmente absorvidos pelo intestino, são capazes de inibir a síntese de colesterol levando à morte das células, com rompimento da membrana celular e formação de infiltrados aterogênicos (PEARSON *et al.*, 1983; KUBOW, 1992 e 1993). Vários pesquisadores têm sugerido que produtos da oxidação do colesterol podem possuir características biológicas indesejáveis tais como: interferência na função e morfologia da membrana, aterogenicidade, citotoxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade e a inibição da biossíntese do colesterol (CSALLANY *et al.*, 1989; GRAY & MORTON, 1981; PEARSON *et al.*, 1983; LADIKOS & LOUGOVOIS, 1990).

2.2.3.1. Efeitos citotóxicos

Muitos dos efeitos citotóxicos atribuídos aos **OsC** são derivados da sua habilidade de inibir a atividade da HMG-CoA redutase conduzindo a redução da síntese do colesterol endógeno. Outro fator importante é a troca do colesterol pela molécula de **OsC** na membrana, perturbando a permeabilidade, estabilidade e outras propriedades da membrana (GUARDIOLA *et al.*, 1996).

A citotoxicidade dos **OsC** para vários tipos de células vem sendo amplamente estudado, incluindo células vasculares tais como células endoteliais, macrófagos, células do músculo liso, e linfócitos. A morte de qualquer um destes tipos de células pode estimular a aterogênese. A perda da função da barreira e exposição da superfície pro-coagulante através da retração e morte das células endoteliais causadas

pelos **OsC** podem ser observados *in vivo e in vitro* e a morte do macrófago mediada pelos **OsC** têm sido sugeridos por contribuir para a formação de lipídios com núcleos necróticos de lesões avançadas. A morte de células do músculo liso está associada com o desenvolvimento de aneurisma (BROWN *et al.*, 1999).

SMITH *et al.* (1989) relataram 28 diferentes **OsC** como sendo citotóxicos. Em 1992 KUCUK *et al.*, mostraram que alguns **OsC** inibem a função lítica de células NK (natural killer) de ratos em culturas celulares e que os **OsC** na posição 5, 6, e 7 são mais efetivos que os óxidos nas posições 20 e 25. BROWN *et al.* (1974) encontraram que a inibição da síntese do colesterol endógeno pelo 7-ceto, o qual reduziu o crescimento de fibroblastos humanos, necessitou de lipoproteínas médias. Isto pode estar relacionado ao fato de que as lipoproteínas se ligam aos **OsC** e então lentamente penetram na membrana, diminuindo a toxicidade dos **OsC**. Estudos *in vivo* já foram realizados utilizando principalmente microorganismos. O efeito bactericida do 7 α -OH e do 25-OH sobre *Salmonella typhimurium* foi relatado por ANSARI *et al.* (1982). O triol tem demonstrado efeito inibitório no crescimento de *Mycoplasma gallisepticum* (HERIAN *et al.*, 1985) e os outros **OsC** inibem o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* (RODRIGUEZ *et al.*, 1983). O implante subcutâneo de triol e 25-OH induzem a ocorrência de necrose e resposta inflamatória aguda em ratos (BARANOSKI *et al.*, 1982).

2.2.3.2. Influência aterogênica

A aterogênese (desenvolvimento da aterosclerose nos vasos) é caracterizada por uma sucessão de desordens nas túnica íntima e média das paredes vasculares. Dentre essas alterações estão o aumento da permeabilidade do endotélio, infiltração de monócitos, proliferação de células musculares lisas adjacentes, agregação plaquetária, acúmulo de lipídios, Ca²⁺ e de componentes de matriz extracelular (BITTENCOURT JÚNIOR & SENNA, 2002).

O processo aterogênico começa pela modificação da função da barreira do endotélio vascular, conduzindo a penetração de **LDL** e placas. Fatores de crescimento são liberados os quais induzem a proliferação e migração das células musculares lisas para afetar a área do endotélio. Monócitos invadem esta área e

tornam-se macrófagos. Células musculares lisas e os macrófagos ingeridos e **LDL** degradada, resultam em células espumosas. O colesterol proveniente da **LDL** é estocado dentro e entre as células espumosas. O acúmulo adicional de colesterol e seus ésteres, a proliferação de células musculares lisas, colágeno, síntese de elastina e depósito de cálcio conduzem a formação de placas ateromatosas fibrosas (ROSS, 1986).

Outro mecanismo possível de ação dos **OsC** na aterogênese pode estar relacionado ao estágio de acúmulo de éster de colesterol e formação de células espumosas, uma vez que a fonte de lipídios oxidados da **LDL** modificada oxidativamente pode ser tanto exógena (de **LDL** contendo **OsC** provenientes da dieta), ou endógena (por oxidação do colesterol mediada por radicais livres). Os **OsC** podem ainda intervir na produção de prostaglandinas (que ocorrem nas células endoteliais, sendo tais substâncias necessárias à integridade vascular) e adesão plaquetária, pois os **OsC** alteram as funções das células endoteliais, alterando também a produção de PGI_2 (prostaglandina I_2) (PENG *et al.*, 1991). A inibição da síntese de PGI_2 favorece a agregação plaquetária e a formação de trombos (GUARDIOLA *et al.*, 1996).

Várias atividades dos **OsC**, as quais possuem propriedades aterogênicas *in vivo* têm sido checados *in vitro*, isto é: seu efeito na permeabilidade vascular, e sobre a síntese de prostaglandinas e agregação plaquetária; sua citotoxicidade nas células musculares lisas; sua habilidade de modificar a funcionalidade do receptor **LDL**; e seu envolvimento no acúmulo de ésteres de colesterol, formação de células espumosas e fase avançada de aterosclerose. Por último estas atividades têm sido relatadas para os seguintes **OsC**: 5,6 α -EP, 5,6 β -EP, 7 α -OH, 7 β -OH, 7-ceto, 25-OH e triol. O triol e o 25-OH são os mais potentes e apresentam diferentes efeitos e mecanismos (GUARDIOLA *et al.*, 1996).

Embora seja sugerido que a hipercolesterolemia possa causar lesão arterial, estudos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que o colesterol não oxidado *per se* não é tóxico para as células da parede vascular (HIGLEY *et al.*, 1986a). Neste sentido, estudos mais recentes demonstraram que coelhos alimentados com dieta rica em colesterol apresentam um aumento dos níveis de **OsC** no plasma e aorta (HIGLEY *et al.*, 1986b; HODIS *et al.*, 1991). Existem fortes evidências de que o colesterol não é

citotóxico e aterogênico, enquanto que os **OsC** seriam altamente citotóxicos e aterogênicos em diversos modelos celulares estudados. Uma vez que os **OsC** são tóxicos ao endotélio, eles podem destruir a integridade endotelial, resultando em uma alteração da permeabilidade vascular, passo inicial para o desenvolvimento da aterosclerose (PENG *et al.*, 1991). Da mesma forma, os **OsC** também alteram várias funções relacionadas às membranas, inclusive a função dos receptores de **LDL**, levando a uma modificação no metabolismo dessas partículas pela diminuição da captação de **LDL**, mediada por receptor B/E, em fibroblastos humanos (BROWN and GOLDSTEIN, 1975).

2.2.3.3. Influência mutagênica e carcinogênica

As possíveis relações entre **OsC** e atividade mutagênica e o desenvolvimento de câncer ainda geram muita discussão (LINSEISEN *et al.*, 1997). BLACK and DOUGLAS (1972) encontraram correlação para a formação de α -CE e a incidência de raios UV no surgimento de câncer de pele, e os **OsC** estavam ligados ao câncer de cólon (triol), câncer de mama e de próstata (5,6 α -EP, 5,6 β -EP) (LINSEISEN *et al.*, 1997).

Demonstrou-se que o 5,6 α -EP do soro humano tem a capacidade de se ligar covalentemente ao **DNA**, formando um complexo estável (BLACKBURN *et al.*, 1979). Em estudo da atividade mutagênica do colesterol oxidado *in vitro* o incremento na atividade foi observado com 4h, mais lentamente a partir das 6 até às 14h, chegando a um máximo, e decrescendo após as 16h (WATANABE *et al.*, 1988). A inibição da síntese do **DNA** pelo 7-ceto, 25-OH, 7 α -OH, e 7 β -OH tem sido indicada por inúmeros estudos revisados (SMITH and JOHNSON, 1989). Relatou-se a capacidade mutagênica do 5,6-EP indicando, em princípio, ser o β mais potente que o α (SENAVIAN and PETERSON, 1986).

Diversos estudos têm mostrado que misturas de **OsC** têm efeito mutagênico sobre *Salmonella typhimurium* TA1537, TA1538 e TA98 (ANSARI *et al.*, 1982; SMITH *et al.*, 1986). Recentemente, este efeito mutagênico tem sido especialmente atribuído a alguns **OsC** sobre células de mamíferos e culturas de bactérias. Os 7 α -hidroperóxido e 5 α -hidroperóxido têm efeito mutagênico sobre *Salmonella*

typhimurium TA1537. Porém, a bactéria metabolizada deste 7 α -hidroperóxido quando metabolizada em 7'-OH e 7-ceto, não mostraram efeito mutagênico, e o 5 α -hidroxiperóxido foi ao mesmo tempo isomerizado para 7 α -hidroperóxido, reduzido para 5 α -colest-6-eno-3 β ,5-diol e transformado para 7-ceto. Estes OsC provavelmente não são mutagênicos, desde que sua atividade possa ser inibida e induzida, respectivamente pelas enzimas catalase e superóxido dismutase (GUARDIOLA *et al.*, 1996).

2.2.4. Fatores que afetam a oxidação do colesterol

2.2.4.1. Aquecimento/Processamento

Diversos resultados mostraram que alimentos frescos não contêm níveis de OsC, ou esses são muito baixos. A maioria dos óxidos foi encontrado em alimentos submetidos a algum tipo de processamento ou quando expostos ao calor (PANIANGVAIT *et al.*, 1995). PARK and ADDIS (1986) realizaram experimentos com o 7-ceto e observaram que o nível desse OsC aumentou linearmente com o tempo de aquecimento, mas o mesmo não foi observado com a temperatura.

SARANTINOS *et al.* (1993) analisando vários alimentos comumente consumidos na Austrália verificou que gema de ovo fresca não apresentava OsC, mas quando a mesma era submetida a cozimento prolongado (fritura, cozimento) formavam-se OsC.

PIE *et al.* (1991) analisaram OsC em carnes bovina, vitela e suína quando submetidas a cozimento em forno convencional, e obtiveram que os OsC aumentaram em torno de 69% a 487% para os diferentes OsC em amostras de carne suína. O efeito do cozimento em forno convencional apresentou-se mais pronunciado do que quando a amostra era submetida à fritura.

2.2.4.2. Armazenamento e Embalagem

O tempo e condições de estocagem aos quais são submetidos os produtos alimentícios influem de forma clara na formação de **OsC** (FONTANA *et al.*, 1993; GUARDIOLA *et al.*, 1995).

Um mix de ovo seco desenvolveu aumento do nível de 7α -OH e 7β -OH, após 80 dias de armazenamento, com exposição à luz fluorescente (HERIAN *et al.*, 1985). Tem-se detectado colesterol oxidado em ovos cozidos e desidratados em quantias de ppm quando são armazenados por muito tempo (TSAI *et al.*, 1979; HERIAN *et al.*, 1985; NOUROOZ-ZADEH *et al.*, 1987).

PARK and ADDIS (1987) relataram que o conteúdo de **OsC** em carne crua de bovino e peru, eram zero após armazenamento. MONAHAN *et al.* (1992) encontraram que a oxidação lipídica em amostras cruas era baixa quando comparadas a amostras processadas.

A extensão da oxidação do colesterol em carne bovina e de peru durante armazenamento foi representada pelo total do nível de **OsC** e relatavam a porcentagem residual do conteúdo de colesterol em cada amostra assim como seu correspondente **TBARS**. Como esperado, o total de **OsC** aumentou junto com o desenvolvimento da rancidez em ambas as amostras (PANIANGVAIT *et al.*, 1995).

LUBY *et al.* (1986) observaram que a utilização de uma “película” de alumínio prevenia a oxidação do colesterol em manteiga quando submetida à exposição por 15 dias à luz fluorescente.

2.2.4.3. Efeito da irradiação

Exposição à luz normal ou UV ou radiação- γ pode iniciar a formação de **OsC** em alimentos. Após LUBY *et al.* (1986) demonstrarem que manteiga exposta à luz acumulava **OsC**, van de BOVENKAMP *et al.* (1988) mostraram que gema de ovo em pó submetida a ação da luz por 3 semanas, aumentava muito o desenvolvimento de diversos **OsC**. Entretanto, gema de ovo em pó exposta à luz e armazenada por 4 anos mostrou que o armazenamento apresentou menos efeito que a irradiação para a

formação de **OsC**.

Estudos revelaram que a exposição do colesterol, em meio aquoso, a irradiação γ - permite a produção de certos produtos da oxidação do colesterol em proporções diferentes daquelas produzidas pela a autooxidação (LAKRITZ and MAERKER, 1989; MAERKER and JONES, 1991). Os derivados específicos do colesterol foram o 7-ceto, o α -EP e o β -EP.

2.2.5. Óxidos de Colesterol nos Alimentos

Os **OsC** constituem um problema em determinados alimentos como, ovos desidratados, leite em pó, batata frita e manteiga derretida (GRAY & MORTON, 1981; PARK & ADDIS, 1985; KUBOW, 1992; ZUNIN *et al.*, 1995), ao passo que em outros alimentos estas substâncias ou são detectadas em pequenas concentrações como nas salsichas, queijo parmesão, manteiga e charque (FISCHER *et al.*, 1985; HIGHLEY *et al.*, 1986a; TORRES, 1987), ou nem o são, como em salsichas de fígado, frangos fritos e hambúrgueres cozidos (PARK & ADDIS, 1985).

Os **OsC** estão presentes em diversas preparações alimentares, especialmente aquelas que contêm altos níveis de colesterol (exemplo: ovo, leite, carne e produtos marinhos).

Os **OsC** mais proeminentes encontrados em alimentos, plasmas e tecidos são colest-5-eno- β ,7 α -diol (7 α -hidroxicolesterol, 7 α -HC; formado pelo composto instável 7 α -hidroperoxicolesterol), colest-5-eno-3 β ,7 β -diol (7 β -hidroxicolesterol, 7 β -HC; formado via 7 β -hidroperoxicolesterol), 5-colestano-3 β ,5 α ,6 β -triol (colestanotriol, CT), colest-5-eno-3 β -ol-7-ona (7-cetocolesterol, 7-KC), 5,6 α -epoxi-5 α -colestano-3 β -ol (colesterol- α -epoxi- α -CE), 5,6 β -epoxi-5 β -colestano-3 β -ol (colesterol- β -epóxido, β -CE), colest—5-eno-3 β ,20 α -diol (20 α -hidroxicolesterol, 20-HC), colest-5-eno-3 β ,22-diol (22-hidroxicolesterol, 22-HC), colest-5-eno-3 β ,25-diol (25-hidroxicolesterol, 25-HC) e colest-5-eno-3 β ,26-diol (26-hidroxicolesterol, 26-HC) (LINSEISEN *et al.*, 1998a).

A extensão da oxidação do colesterol em alimentos depende da própria composição do alimento (conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, antioxidantes)

assim como o processo tecnológico utilizado. Uma série de fatores é conhecida por aumentar a formação de óxidos em alimentos incluindo a presença de conteúdo de oxigênio contido na atmosfera, temperatura do processamento, tempo de aquecimento, e condições de armazenamento. Estudos com ovo em pó apresentaram 200ppm, leite em pó com 30ppm, enquanto em ovos frescos e leite fresco não foram detectados nem traços nem quantias consideráveis de **OsC**. Carne e outros produtos de origem animal como maior fonte de colesterol na dieta humana contém vários níveis de **OsC** (LINSEISEN *et al.*, 1998a).

2.3. Ácidos Graxos

Os **AG** são ácidos carboxílicos, geralmente monocarboxílicos, que podem ser representados pela forma RCO_2H . Na maioria das vezes, o grupamento R é uma cadeia carbônica longa, não ramificada, com número par de átomos de carbono, podendo ser saturada ou conter uma ou mais insaturações. O grupo carboxila constitui a região polar e a cadeia R, região apolar da molécula.

A presença de insaturações (duplas ligações) na cadeia hidrocarbônica classifica-os como:

- Saturados: que não possuem insaturações na molécula;
- Insaturados: que possuem uma (monoinsaturados) ou mais (poliinsaturados) insaturações na molécula.

A presença de insaturações restringe a rotação da cadeia hidrocarbonada, fazendo com que ocorra isomeria em torno da dupla ligação, que é denominada configuração *cis* ou *trans* (ZAIA, 2002).

A essencialidade dos **AG** tem dois requisitos: (A) este tipo de **AG** é imprescindível ao organismo; e (B) não pode ser sintetizado pelo mesmo. Assim, os **AG** essenciais compõem uma classe de moléculas que não podem ser geradas pelo organismo, mas que são necessárias ao seu funcionamento. Há duas subclasses de **AG** essenciais – os ômega três e os ômega 6 (série n-3 e n-6 são importantes no desenvolvimento do sistema nervoso central (embriogênese e infância) e no funcionamento ideal do mesmo) (POMPÉIA, 2002).

A estrutura química do **AG** determina seus efeitos metabólicos potenciais: primeiro pela orientação do seu destino metabólico em seu corpo depende da sua família química devido à cascata de reações bioquímicas (elongação, desaturação, oxidação); segundo por causa da sua estrutura química específica provêm a eles propriedades físico-químicas particulares que tem papel chave no funcionamento da membrana celular assim como o metabolismo das lipoproteínas; e finalmente, alguns **AG** têm demonstrado regular a expressão genética pela interação com específicos receptores nucleares.

Diferentes tipos de **AG** estão presentes em alimentos. A maioria dos **AG** consumidos tem uma cadeia longa comprimida entre C-14 e C-20. Os ácidos graxos saturados estão principalmente na forma de C16:0 (ácido palmítico) e C18:0 (ácido esteárico), com pouco C4:0, C10:0, C12:0 ou C14:0. Diversas famílias de ácidos graxos insaturados (configuração *cis*) são encontradas. O **MUFA** (ácido graxo monoinsaturado) mais comum é o C18:1, n-9 (ácido oléico). Sobre os **PUFA** (Ácido graxo poliinsaturado), o mais representativo é o C18:2, n-6 (ácido linoleico), com pouco C20:4, n-6 (ácido aracdônico) ou C18:3, n-3 (α -linolênico), junto com o **AG** de cadeia longa o C20:5, n-3 (ácido eicosapentanóico) e C22:6, n-3 (ácido docosahesanoico).

As principais fontes dietéticas de ácidos graxos saturados são alimentos animais, carne e derivados assim como ovos, leite e produtos lácteos. Alguns óleos vegetais tropicais (óleo de coco e palma) também contêm altos teores de ácidos graxos saturados. Os **MUFAs** são comuns em tecidos animais, mas são especialmente concentrados no óleo de oliva e no óleo de amendoim só que em menor quantidade. **PUFAs** da série n-6 são encontrados na maioria dos óleos vegetais tais como milho, soja, girassol e canola. Os **PUFAs** pertencentes à família ômega 3 (Série n-3) são menos disseminados; C18:3 encontrados em grande quantidade em alguns alimentos vegetais (óleo de soja, canola, amendoim) onde os **AG** de cadeia longa tais como C20:5 e C22:5 são encontrados essencialmente em pescados e animais marinhos (LAIRON, 1997).

O conteúdo de **PUFAs** em músculos varia entre as espécies e diminui na ordem pescado>aves>suíno>bovino>cordeiro (PEARSON *et al.*, 1977). A

suscetibilidade a oxidação lipídica mostrou-se estar na mesma ordem (TICHIVANGA and MORRISSEY, 1985)

2.4. Malonaldeído

Atualmente são vários os autores que manifestam o fato da necessidade de estudos relacionando o alto consumo de **PUFA** e o aparecimento de doenças. Apesar da alta ingestão de **PUFA**, sem dúvida, ter contribuído para o decréscimo dos níveis de colesterol plasmático e reduzido as mortes em 25% quando relacionadas a problemas vasculares, esta aumentou em 30% a mortalidade por causas não vasculares, acredita-se, portanto na relação entre o alto consumo e a peroxidação de **PUFA** (OLIVER, 1981; RAMIREZ-TORTOSA *et al.*, 1999).

Essa preocupação tem razão de ser, uma vez que a oxidação lipídica e a oxidação do pigmento heme são importantes causas da deterioração da qualidade de produtos cárneos, levando a muitos efeitos adversos às suas características da qualidade tais como sabor, aroma, cor, textura e valor nutritivo (BUCKLEY & MORRISSEY, 1992), influenciando a decisão de compra pelos consumidores (DIRINCKI *et al.*, 1996) e podendo colocar em risco a segurança destes alimentos (RETAILER, 1997). A susceptibilidade do tecido muscular à oxidação se deve à sua alta concentração de catalisadores (mioglobina, hemoglobina, citocromos, ferro não-heme e outros metais de transição) e **PUFAs** presentes nos lipídios, esses quando oxidados reagem com outros componentes do alimento como proteínas, carboidratos e vitaminas. Além do comprometimento nutricional, este tipo de interação afeta a funcionalidade das proteínas (SHAHIDI *et al.*, 1987, XIONG *et al.*, 1995, TICHIVANGA and MORRISSEY, 1985).

As fontes de malonaldeído podem ser exógenas, originárias de **AG** alimentares, e endógenas, derivadas da oxidação de fosfolipídios de biomembranas (DAHLE *et al.*, 1962) e da decomposição do ácido araquidônico, pela cicloxigenase, na síntese de prostaglandinas (PRYOR *et al.*, 1976).

Segundo FERNANDEZ *et al.* (1997) uma das causas mais importantes da deterioração da carne é a oxidação lipídica, a qual afeta os **AG** particularmente os poliinsaturados.

A modificação dos **AG** é principalmente suportado pelo mecanismo autocatalítico dos radicais livres chamado autooxidação, consistindo de três fases:

1. Iniciação:

2. Propagação:

3. Terminação:

Existem dois tipos de rancidez: a hidrolítica e a oxidativa. A rancidez hidrolítica ocorre devido à ação de enzimas sobre os óleos e gorduras, liberando os **AG** das moléculas de triacilgliceróis. A rancidez oxidativa é a reação mais importante em óleos e gorduras do ponto de vista da qualidade. Ocorre com maior facilidade em gorduras ricas em **AG** insaturados, pois o oxigênio atmosférico reage com as duplas ligações. Quanto maior a insaturação da cadeia, maior o grau de reatividade e a produção de peróxidos e hidroperóxidos, que podem ser tóxicos quando em grande quantidade.

São inúmeros os fatores que influenciam a estabilidade de óleos e gorduras. Entre esses, podemos citar: temperatura de armazenamento, incidência da luz, disponibilidade de oxigênio, presença de substâncias catalisadoras de reações e emprego de antioxidantes.

Nas carnes, o principal mecanismo de deterioração química é a rancidez oxidativa, resultante da oxidação dos **PUFAs**. Os fosfolipídios que estão presentes nas membranas celulares são os principais alvos da oxidação em carnes e derivados de aves, bovinos, suínos e ovinos, pois possuem em sua composição grandes quantidades de **AG** insaturados.

O principal resultado da oxidação lipídica em carnes é o aparecimento de sabores e odores desagradáveis em carnes pré-cozidas e armazenadas sob congelamento, comumente conhecidos como “warmed-over-flavor”, que significa

sabor e aroma de requeijado. Estes aromas resultam do acúmulo de produtos oriundos de AG, sendo o hexanal o mais volátil e o mais comum. Além de sabor e aroma, a oxidação lipídica afeta os alimentos quanto à textura e à coloração e diminui o valor nutricional, principalmente pela inativação de vitaminas lipossolúveis antioxidantes e pela diminuição do teor de AG essenciais.

Fatores que determinam a extensão e a quantidade formada de malonaldeído (MDA) da peroxidação dos PUFA são: o grau de insaturação do AG, a presença de metais, pH, e a temperatura e duração do aquecimento.

O MDA pode complexar com aminoácidos, proteínas, glicogênio e outros constituintes alimentares para formar produtos nos quais o MDA é uma forma de ligação. As principais interações são: água, proteínas e carboidratos (FERNANDEZ *et al.*, 1997).

Alguns procedimentos aplicados às carnes durante a industrialização e o preparo promovem a oxidação lipídica. São esses: desintegração mecânica, fatiamento, moagem, trituração e emulsificação. Com a desintegração mecânica da carne, o processo oxidativo é iniciado mesmo em condições de resfriamento.

Carnes de bovinos são mais estáveis que as de suínos. Estas diferenças estão principalmente relacionadas ao teor de fosfolípidios em seus tecidos (LIMA *et al.*, 2002).

A Vitamina E ou α -tocoferol, uma molécula lipossolúvel, está sendo considerada um dos mais efetivos antioxidantes naturais, protegendo as membranas celulares da destruição oxidativa, conferindo melhores características funcionais e maior estabilidade da oximioglobina e dos lípidios, resultando respectivamente, em menor descoloração e rancificação, em carnes bovina, suína, aves, pescados, ovelha e em outras espécies, quando simuladas sob condições de venda ao varejo (BUCKLEY & MORRISSEY, 1992; SCHAEFER *et al.*, 1995; LAVELLE *et al.*, 1995; BUCKLEY *et al.*, 1995; JENSEN *et al.*, 1995; LIU *et al.*, 1996; DIRINCK *et al.*, 1996; GUIDERA *et al.*, 1997; MORRISSEY *et al.*, 1998).

A diminuição da perecibilidade das carnes frescas e a sua conseqüente extensão do tempo de vida de prateleira, devido a suplementação de α -tocoferol, colabora para a diminuição de prejuízos, que normalmente são gerados pelas devoluções dos supermercados às indústrias (SHERBECK *et al.*, 1995), tornando a

implantação desta técnica viável economicamente (LIU *et al.*, 1995; RETAILER, 1997). Ainda, existem evidências de que a suplementação de Vitamina E inibe o PSE em suínos (CHEAH *et al.*, 1995) e em perus (FERKET *et al.*, 1995).

APTE and MORRISSEY (1987) mostraram que a fração ferritina contribuiu significativamente para a oxidação lipídica em carnes aquecidas. A suscetibilidade do músculo a oxidação lipídica é também influenciada pela presença de antioxidantes. A suplementação com vitamina E (α -tocoferol) aumentou a estabilidade oxidativa de músculo de pescado (FRIGG *et al.*, 1990), frango (BREKKE *et al.*, 1975; OLIVO & SHIMOKOMAKI, 2001), suíno (BUCKLEY and CONNOLLY, 1980), e vitela (ENGESETH *et al.*, 1993).

2.5. Produtos cárneos

A carne e os produtos cárneos são componentes essenciais da dieta nos países desenvolvidos. Seu consumo é afetado por vários fatores: propriedades nutricionais e sensoriais, segurança, preço, conveniência, saúde, clima, legislação, etc., e estes fatores estão intimamente ligados aos aspectos: social, econômico, político e geográfico. São importantes fontes de proteínas, vitaminas e minerais, mas também contém gorduras, **AG** saturados, colesterol, sal, etc. (JIMÉNEZ-COLMENERO *et al.*, 2001).

As propriedades sensoriais da carne possuem importante influência na decisão de compra pelos consumidores e na sua aceitação. Um dos maiores desafios para a indústria de carnes é oferecer produtos macios, suculentos e com cor e sabor agradáveis e que estas características de frescor mantenham-se estáveis durante toda a sua vida de prateleira (JONES, 1992), com maior segurança e o menor custo possíveis (OLIVO & SHIMOKOMAKI, 1993; OLIVO *et al.*, 1994).

Segundo PARDI *et al.* (1993) a carne, em sentido amplo, constitui um alimento nobre para o homem, dadas a produção de energia, a função plástica na formação de novos tecidos orgânicos e a regulação dos processos fisiológicos.

Sua maior contribuição à dieta é devida à quantidade e qualidade de suas proteínas de alto valor biológico, à presença de **AG** essenciais e de vitaminas do complexo B (encontram-se também outras vitaminas em quantidades pouco

significativas A, D, E, K e C) e em menor proporção aminoácidos essenciais (PARDI *et al.*, 1993).

Os lipídios são importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis de suculência, sabor e aroma. Contudo, os mesmos são facilmente oxidáveis, levando à formação de produtos tóxicos e indesejáveis (PEARSON *et al.*, 1983). Por sua vez, a cor é provavelmente o principal atributo de qualidade que leva o consumidor a decidir pela aquisição de determinado produto (LIN & HULTIN, 1977; MONAHAN *et al.*, 1994; LIU *et al.*, 1995; SANDERS *et al.*, 1997).

A qualidade da carne e produtos cárneos é influenciada por muitos fatores intrínsecos e extrínsecos. Dentre os fatores extrínsecos destacam-se a temperatura, umidade relativa, luz, efeito do oxigênio e envase. Quanto aos fatores intrínsecos consideram-se as propriedades físicas, químicas e microbiológicas, próprias do alimento bem como sua formulação, pH, atividade de água, potencial redox, conteúdo de oxigênio, entre outros (STIEBING, 1993).

A carne é um alimento com uma estrutura nutricional complexa. Ela se torna mais digerível quando é submetida a processamento térmico (cozido, assado, frito, grelhado, microondas, outros). Contudo o processamento térmico pode produzir modificações indesejáveis, tais como, perda do valor nutricional devido principalmente à oxidação lipídica, e mudanças em alguns componentes da fração protéica (RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.*, 1997). De forma mais importante, a desnaturação durante o cozimento pode mudar fundamentalmente as propriedades funcionais de uma proteína, incluindo interações com macromoléculas tipo carboidratos, lipídios e outras proteínas, bem como com pequenas moléculas, como o sal (BAILEY & LIGHT, 1989).

A quantia de colesterol em carnes e seus produtos dependem de numerosos fatores, mas em geral é inferior a 75 mg/100g, exceto nos casos de miúdos (coração, rim, miolo, etc.) onde as concentrações são muito maiores (JIMÉNEZ-COLMENERO *et al.*, 2001).

Nos produtos cárneos preparados, empregam-se matérias-primas de diversas espécies animais, como bovinos e suínos em especial, e também, para certos fins, de ovinos, caprinos, eqüídeos, aves e pescados.

Os produtos cárneos emulsionados, tipo salsichas, salsichões e mortadelas são bastante populares. São consumidos tanto a nível doméstico como no mercado de alimentação rápida, representando um importante segmento das carnes industrializadas. Estima-se um consumo per capita anual de aproximadamente 2Kg de produtos emulsionados, mostrando fazer parte integrante de nossa dieta e ter considerável importância em nossa economia (BETANHO *et al.*, 1994).

FORREST *et al.* (1979) definem embutidos como sendo produtos cárneos picados e condimentados, que podem também ter sido curados, defumados, moldados e tratados termicamente. No processo de preparação de embutidos, o grau de trituração das carnes é muito importante e varia de acordo com o produto, como por exemplo: no salaminho, a carne é picada grosseiramente; no caso de mortadela, as carnes são trituradas e formam uma emulsão, e a esta emulsão, adicionam-se pequenos cubos de toucinho. As salsichas são manufaturadas com carnes finamente trituradas, misturadas com gorduras, formando uma massa viscosa com características de emulsão.

Os embutidos crus, ou de massa crua ou semicrú, são elaborados a partir de carne de suínos ou bovinos e de gorduras de suínos, cruas e migadas grosseiramente, adicionadas de sal, nitrato e/ou nitrito, especiarias e determinados aditivos. A cura, matéria-prima e condimentação são iguais aos outros embutidos crus. A diferença reside no tratamento subsequente, as frescas não são maturadas nem dessecadas sob qualquer forma e são lançadas no mercado na mesma forma em que são produzidas ou com gomos envoltos em material plástico, sob vácuo. Entre a grande variedade destes produtos embutidos sobressaem as linguiças, com composição variada quanto à carne, de suíno ou de bovino, e à proporção de gordura (PARDI *et al.*, 1994).

Entende-se por “embutido”, todo produto elaborado com carne ou órgãos comestíveis curado ou não, condimentado ou não, defumado e dessecado ou não, tendo como envoltório tripa, bexiga ou membrana animal. No regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, (RIISPOA, artigo 412), o parágrafo 1º permite o emprego de películas artificiais no preparo de embutidos, desde que aprovadas pela Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Os embutidos não podem conter mais de 5% (cinco por cento) de

amido ou fécula, adicionados para dar melhor liga à massa (RIISPOA, artigo 414) (BRASIL, 1962).

Entende-se por lingüiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais adicionadas ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. A lingüiça calabresa é o produto obtido exclusivamente de carne suína, curado, adicionado de ingredientes, devendo ter o sabor picante característico da pimenta calabresa submetidas ou não do processo de estufagem ou similar para desidratação e ou cozimento, sendo o processo de defumação opcional. Nas lingüiças denominadas tipo calabresa, que são submetidas ao processo de cozimento, será permitido a utilização de até 20% de CMS – Carne Mecanicamente Separada, desde que seja declarado no rótulo de forma clara ao consumidor a expressão “Carne Mecanicamente Separada de” (espécie animal) além de constar na relação de ingredientes a expressão “contém” ou “com CMS (espécie animal)” (Instrução Normativa 31/03/2000).

A porcentagem de gordura varia de acordo com a carne utilizada para o preparo. O produto tem pH ao redor de 6.0 e é freqüentemente consumido mal passado, representando um risco a saúde humana (LISERRE *et al.*, 2002).

A composição geral de carne suína consiste de 72% de água, 20% de proteína, 7% de gordura, 1% de minerais e menos que 1% de carboidratos. Comparando-se com outros alimentos, a carne suína é um alimento rico em proteína, e pobre em carboidratos e contém relativamente baixo nível energético (em torno de 147KCal/100g de carne suína) (BRAGAGNOLO *et al.*, 2002).

A carne suína, no entanto, é considerada um alimento de alto teor de colesterol. MATTSON *et al.* (1972) verificaram uma relação linear entre o colesterol da dieta e o sanguíneo humano e observaram que cada 100mg de colesterol/1000KCal consumida resulta em um aumento de colesterol no plasma de aproximadamente 12mg/100ml.

O consumo de carne suína continua crescendo, mundialmente em torno de 5% ao ano. O Brasil situa-se entre os 10 maiores produtores, no entanto encontra-se entre os 30, em termos de consumo (BRAGAGNOLO *et al.*, 2002).

No ano de 2003 o Brasil tem exportado suínos não somente para a Rússia, mas também para outros países como Bulgária, Hong Kong, Singapura e Argentina. No sul do país o consumo de suíno é cerca de 18Kg por habitante/ano enquanto que ao norte esse consumo é duas vezes menor (<http://www.fas.usda.gov>).

Nos últimos cinco anos o consumo de carne suína vem aumentando 1999 - 1,727 toneladas, 2000 - 1,827 toneladas, 2001 – 1,919 toneladas, 2002 – 1,975 toneladas, 2003 – 1,957 e a projeção para 2004 é 2,060 toneladas.

Em 2003 o Brasil apresentou o 4º lugar na produção de carne de suíno (2,560 toneladas) ficando atrás da República da China (44,600 toneladas), União Européia (17,800 toneladas) e Estados Unidos (9,073 toneladas).

O Brasil exportou no ano de 2003 o equivalente a 603,000 toneladas de carne suína, sendo que os Estados Unidos exportou 779,000 toneladas, Canadá 974,000 toneladas e União Européia 1.150,000 toneladas (<http://www.fas.usda.gov>).

As exportações brasileiras de carne suína apesar dos problemas enfrentados com a queda acentuada de vendas para Rússia, em decorrência cotas de importação estipuladas pelo país, ainda conseguiram fechar 2003 com crescimento substancial, de 12,4%. A indústria exportadora fechou o ano com faturamento de US\$ 527 milhões, frente ao US\$ 469 milhões registrados em 2002. Entretanto, o segmento registrou leve queda na participação das vendas externas totais do País de 0,8% para 0,7% (<http://www.suinoculturaindustrial.com.br>).

Segundo a Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária o valor bruto da produção em 2002 (em R\$ milhões) de carne bovina foi de 26.063,80, carne de frango foi 11.573,50 e carne suína foi 5.319,90. Já em 2003 os valores (em R\$ milhões) foram carne bovina 26.955,70, carne de frango 9.443,50 e carne de suíno 4.812,10 (<http://www.suinoculturaindustrial.com.br>)

2.6. Parâmetros para a validação de metodologias

A validação é necessária para assegurar a qualidade, segurança e eficiência de processos analíticos, e reordena conceitos tornando o teste no produto final como confirmatório e não como fator determinante da qualidade (ANISFELD, 1994; GOLD, 1996; PONGILUPPI, 1985).

A escolha da metodologia adequada é de fundamental importância para o procedimento do controle de qualidade de uma substância ativa. Para cada caso há necessidade de resultados experimentais evidentes, que garantam a funcionalidade do método, bem como do tratamento analítico adequado, da avaliação estatística dos resultados e da definição dos critérios de aceitação.

A aplicação de métodos cromatográficos para a análise quantitativa de compostos de interesse biomédico continua a gerar grande número de métodos publicados. No passado várias metodologias foram publicadas, mas ocorria a dificuldade de reprodução dos dados fora do laboratório original e era despendido muito tempo para tentar adaptar o método quando aplicado para novas amostras, tornando-se inviáveis. Mudanças no método são importantes para assegurar que a validação seja bem conduzida e produza resultados satisfatórios. O desenvolvimento de métodos envolve a avaliação e otimização de vários estágios de preparação de amostras, separação cromatográfica, detecção e quantificação. A validação de um método bioanalítico é o processo utilizado para verificar se a performance dos parâmetros analíticos é adequada. Para os métodos cromatográficos utilizados nas aplicações biomédicas a prática de validação deve incluir: recuperação, exatidão, precisão, especificidade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade e intervalo de aceitação (CAUSON, 1997).

JUSTIFICATIVA

3. Justificativa

A procura por produtos cárneos com menores taxas de oxidação e mais saudáveis é uma preocupação mundial.

O efeito do processamento térmico e o tipo de embalagem dos alimentos sobre a formação dos OsC vêm sendo investigado. Evidências sugerem que o tempo e a temperatura são fatores determinantes neste processo, influenciando diretamente na taxa de oxidação de colesterol.

OBJETIVOS

4. Objetivos

4.1. Objetivo geral

- ❖ Avaliar a influência do método de cocção no valor nutritivo, qualidade lipídica e formação de óxidos de colesterol em lingüiças calabresas a vácuo e granel.

4.2. Objetivos específicos

- ❖ Caracterizar a composição centesimal, valor energético e perfil dos ácidos graxos das lingüiças calabresas,
- ❖ Caracterizar o pH, Aw (AA) e TBARS nas lingüiças calabresas,
- ❖ Determinar a ocorrência de colesterol, 7-Ceto, 25-OH, 7 α -OH e 7 β -OH em lingüiça calabresa.

MATERIAL E MÉTODOS

5. Material e Métodos

5.1. Material

O objeto de estudo deste trabalho foi constituído por lingüiça calabresa (frescal e defumada). As amostras (sempre da mesma marca) corresponderam a 4 lotes, em embalagem a vácuo e granel e foram adquiridas localmente, em 2 redes de supermercados diferentes da Cidade de São Paulo. As amostras foram coletadas e acondicionadas em embalagem isotérmica, só então foram transportadas ao Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo onde foram preparadas e em seguida analisadas no Laboratório de Bromatologia da FSP/USP. As amostras foram mantidas em geladeira ($8\pm 1^{\circ}\text{C}$) até serem analisadas.

O fato de utilizar 2 supermercados diferentes se fez necessário para que não ocorresse repetição de mesmo lote, fornecedor e condições de armazenamento.

As coletas foram realizadas em épocas diferentes para que não houvesse repetição de lote. As amostras provenientes da embalagem a vácuo tinham em média 20 dias de fabricação quando foram coletadas para análise e seu prazo de validade era de 60 dias. Já as amostras oriundas da embalagem a vácuo eram acondicionadas em bandejas dentro da geladeira frigorífica e cobertas com uma película de PVC e tinham prazo de validade médio de quatro dias. Isto foi observado nos dois supermercados analisados.

Foi realizado um pré-teste com as amostras para padronização do tempo de fritura, temperatura do óleo, tempo de grelha e grau de cozimento interno do alimento.

A fritadeira elétrica utilizada dispunha de um dispositivo (timer) para manter a temperatura constante (Fitanella Square com 2 variações de temperatura). Para grelhar as lingüiças utilizou-se uma churrasqueira elétrica (Eletric Grill – Gazarra).

Para avaliar a temperatura interna do alimento, da grelha e do óleo utilizou-se um termômetro digital (Modelo HD9215 – Range de -50°C a $+199^{\circ}\text{C}$).

O grau de processamento térmico do alimento foi realizado utilizando-se um sensor de cozimento da 3M. Este sensor era composto por 3 estágios: sensor ponta

preta – alimento cru; sensor metade vermelho – alimento ao ponto; sensor todo vermelho – alimento muito passado. E padronizou-se por utilizar alimento ao ponto.

As amostras foram submetidas a três tipos de processamento: cru, frito em óleo de soja e grelhado (grelha elétrica):

a) Crua – as amostras foram analisadas cruas para se obter um parâmetro de como as lingüiças se encontravam quanto as variáveis em estudo.

b) Frito – para a fritura das lingüiças utilizou-se óleo de soja. As amostras foram fritas em uma fritadeira elétrica com constância de temperatura. O tempo de fritura foi de 2,5 min para cada lado. A temperatura padronizada para o óleo foi de 150°C, a temperatura interna da lingüiça a vácuo variou de 90 a 95°C, já na lingüiça a granel a temperatura interna variou de 88 a 95°C. Após a fritura de cada lingüiça o óleo era desprezado e a fritadeira era toda limpa e aguardava-se o tempo necessário para o equilíbrio da temperatura desejada.

c) Grelhado – para grelhar as lingüiças utilizou-se uma churrasqueira elétrica e a temperatura padronizada foi 150°C. O tempo de grelha foi de 5 min para cada lado. A temperatura interna da lingüiça a vácuo variou de 95 a 98°C, já na lingüiça a granel a temperatura interna variou de 86 a 92°C. Após grelhar cada lingüiça a grelha era toda limpa e aguardava-se o tempo necessário para o equilíbrio da temperatura desejada.

As amostras cruas e processadas foram homogeneizadas individualmente e acondicionadas em embalagens. Parte dessas amostras foram analisadas imediatamente para que não ocorresse alteração na composição nutricional e no teor de óxidos de colesterol, e a outra parte das amostras foi armazenada em freezer (para uma eventual repetição de análise) (Figura 3).

Figura 3 : Fluxograma das análises realizadas no laboratório

5.2. Reagentes e Solventes

Os reagentes utilizados para as análises de CG (Cromatógrafo gasoso) e HPLC (Cromatógrafo líquido) tinham grau HPLC – adquiridos da Merck KgaA – Germany - e as demais análises utilizaram reagentes grau ACS.

Os padrões de colesterol, 7-ceto, 25-OH, 7 α -OH e 7 β -OH foram adquiridos da Steraloids Inc. – USA.

Os solventes utilizados nas análises com HPLC foram filtrados antes do uso em membranas Durapode® HV-PVDF (47 mm de diâmetro e 0,45 μ de poro) – Millipore do Brasil.

O 2-propanol foi seco sobre Na₂SO₄ anidro antes do uso, por apresentar umidade variável, causando variações nos tempos de retenção.

5.3. Métodos

As amostras de lingüiça calabresa foram caracterizadas em relação à composição centesimal, Aw (AA), pH, TBARS, lipídios totais, ácidos graxos, colesterol e OsC (25-OH, 7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH).

5.3.1. Composição Centesimal

Os valores médios de umidade, proteínas e minerais (cinzas) foram determinados, quantitativamente, conforme metodologia do ADOLFO LUTZ (1985) e AOAC (1995).

5.3.1.1. Umidade

O teor de umidade foi determinado com uma amostra de 10 g ($\pm 0,1$ mg) que foram secas em estufa a 105°C, temperatura constante, por um período de aproximadamente 12h, seguido de resfriamento em dessecador e posteriormente pesagem.

5.3.1.2. Proteína Bruta

As amostras foram analisadas por método semi-micro Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25 para conversão de nitrogênio total em proteína bruta. Pesando-se 50mg ($\pm 0,1$ mg) de cada amostra seca, envolvendo-as em papel impermeabilizado e depositando-as em tubos de ensaio juntamente com 40mg ($\pm 0,1$ mg) de sulfato cúprico (CuSO_4), 2g ($\pm 0,1$ mg) de sulfato de potássio (K_2SO_4) e 3 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) que funcionam como catalisadores de digestão.

5.3.1.3. Cinzas

As cinzas foram determinadas por meio da pesagem de 2g ($\pm 0,1$ mg) de cada amostra dessecada em cadinhos calcinados e tarados. Posteriormente, os cadinhos com as amostras foram incinerados em bico de Bunsen, calcinados em mufla regulada em 550°C até total destruição da matéria orgânica. Depois de resfriados, os cadinhos foram pesados e efetuados os cálculos de percentagem de cinzas obtidas.

5.3.1.4. Carboidratos e Valor Energético (KCal e KJ)

Os valores de carboidratos foram determinados por diferença. Os valores obtidos foram empregados para a estimativa do valor energético (KCal), onde foram utilizados os coeficientes de Atwater (WATT & MERRILL, 1963), ou seja, 4,0 para proteínas, 4,0 para carboidratos e 9,0 para lipídios. Para o cálculo do valor energético em KJ foram aplicados os coeficientes 17 para proteína, 37 para lipídios e 16 para carboidratos (SLIMANI *et al.*, 2000).

5.3.2. Potencial hidrogeniônico (pH)

As análises para determinação de pH foram mensuradas em termômetro-potenciômetro portátil, marca Ingold, modelo 206, resolução $\pm 0,01$ pH e $0,1^{\circ}\text{C}$. O valor do pH foi medido diretamente na amostra homogeneizada (tomando o cuidado de o termômetro não encostar-se ao fundo do becker ou em partes exclusivas de gordura) de acordo com a prática industrial, na mesma temperatura que as soluções tampões de referência (pH 4 e 7).

5.3.3. Atividade da Água (A_w (AA))

As análises de atividade de água (A_w (AA)) foram executadas através de medidor automático da marca Aqualab-Decagon Devices Inc., modelo CX-2 (Washington/USA) (Aqualab, s.d.). A capacidade que um alimento apresenta em liberar água sob forma de vapor e condensar num aparelho resfriado, quando aquecido e resfriado, repetidamente, representa o princípio realizado pelo método. Assim, a atividade de água é expressa pela razão: pressão de vapor de água do alimento sobre pressão de vapor da água pura (A_w (AA) = P_{VAA}/P_{VAP}).

5.3.4. Lipídios Totais

Os lipídios totais foram determinados por coluna seca e para a análise utilizou-se a metodologia recomendada por MARMER & MAXWELL (1981) que, defendem esse método como sendo uma alternativa viável à extração com clorofórmio, metanol e água. Os beckeres utilizados foram previamente secos em estufa, regulada para 105°C durante 12 horas, após esse período, foram resfriados em dessecador e pesados. Dez mililitros do extrato da coluna seca foram transferidos para o becker e evaporados em nitrogênio e em seguida, novamente colocado em estufa a 105°C por 3 horas seguido de resfriamento em dessecador e pesagem em balança analítica.

5.3.5. Método para a determinação de TBA

O método para a quantificação de TBA segue o método realizado desenvolvido por TARLADGS *et al.* (1964), modificado por CRACKEL *et al.* (1988), conforme as recomendações de SHAHIDI *et al.* (1987), adaptado para os produtos embutidos pelo Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição (TORRES & OKANI, 1997).

➤ **Os passos da técnica para as amostras são:**

- 1) Pesar 10g ($\pm 0,1$ mg) da amostra homogeneizada em frasco de Kjeldhal, adicionar 97,5mL de água destilada, 2,5mL de HCl 4N, 2mL de solução de sulfanilamida, algumas gotas de antiespumante e pérolas de vidro para evitar turbulência;
- 2) Destilar em destilador Kjeldhal, utilizando nível alto de aquecimento, por 15-20 minutos, até recolher 50mL de destilado em erlenmeyer de 125mL;
- 3) Retirar uma alíquota de 5mL do destilado e transferi-la para um tubo de ensaio com tampa rosqueado, adicionando 5mL de solução de ácido 2-tiobarbitúrico 0,02M. Vedar os tubos, misturar os conteúdos e colocar em “banho-maria” fervente por 35 minutos;
- 4) Preparar um branco com 5mL de água destilada e 5mL de solução TBA e tratá-lo como as amostras;
- 5) Depois de aquecer, resfriar a amostra em água fria e fazer a transferência para uma cubeta. Fazer a leitura da absorção da amostra em espectrofotômetro contra branco a 530nm.

➤ **Os passos da técnica para a recuperação são:**

- 6) Pesar 10g ($\pm 0,1$ mg) da amostra homogeneizada em frasco de Kjeldhal, adicionar 97,5mL de água destilada, 2,5mL de HCl 4N, 2mL de solução de sulfanilamida, algumas gotas de antiespumante e pérolas de vidro para evitar turbulência;
- 7) Pesar 10g ($\pm 0,1$ mg) da amostra homogeneizada em frasco de Kjeldhal, adicionar 97,5mL de água destilada, 2,5mL de HCl 4N, 2mL de solução de sulfanilamida, algumas gotas de antiespumante, pérolas de vidro para evitar turbulência e 1 mL de solução de TEP (2×10^{-8} molesMA/5mL);

8) Em um frasco de Kjeldhal adicionar 97,5mL de água destilada, 2,5mL de HCl 4N, 2mL de solução de sulfanilamida, algumas gotas de antiespumante, pérolas de vidro para evitar turbulência e 1 mL de solução de TEP (2×10^{-8} molesMA/5mL);

9) Seguir os passos 2 a 5 da metodologia anterior.

Cálculos utilizados para a recuperação:

$$\% \text{ Rec} = \frac{(\text{absorbância da amostra} + \text{TEP})}{(\text{absorb. da amostra} + \text{absorb. do TEP})} \times 100$$

➤ **Os passos da técnica para a curva padrão são:**

10) Preparar uma solução (1) stock de TEP (1,1,3,3-tetra-etoxipropano - 1×10^{-3} moles - 0,1103g de TEP e completar para 1000mL de água destilada). A partir dessa solução (1) preparar uma solução (2) de TEP (2×10^{-8} molesMA/5mL - 1mL da solução (1) e diluir para 50 mL com água destilada)

11) Em tubo de ensaio rosqueado utilizando a solução (2) de TEP tomar as alíquotas (0,5mL, 1,0mL, 1,5mL, 2,0mL, 2,5mL, 3,0mL e 3,5mL) e montar da seguinte forma:

a) 0,5mL = 1×10^{-8} moles/5mL + 4,5mL H₂O + 5,0mL TBA;

b) 1,0mL = 2×10^{-8} moles/5mL + 4,0mL H₂O + 5,0mL TBA;

c) 1,5mL = 3×10^{-8} moles/5mL + 3,5mL H₂O + 5,0mL TBA;

d) 2,0mL = 4×10^{-8} moles/5mL + 3,0mL H₂O + 5,0mL TBA;

e) 2,5mL = 5×10^{-8} moles/5mL + 2,5mL H₂O + 5,0mL TBA;

f) 3,0mL = 6×10^{-8} moles/5mL + 2,0mL H₂O + 5,0mL TBA;

g) 3,5mL = 7×10^{-8} moles/5mL + 1,5mL H₂O + 5,0mL TBA;

BRANCO = 5,0mL H₂O + 5,0mL TBA.

12) Vedar os tubos, misturar os conteúdos e colocar em banho-maria fervente por 35 minutos.

13) Depois de aquecer, resfriar a amostra em água fria e fazer a transferência para uma cubeta. Fazer a leitura da absorção da amostra em espectrofotômetro contra branco a 530nm.

Cálculos utilizados para a curva padrão:

$$D = \frac{\Sigma \text{absorbância}}{\Sigma \text{concentração}} \quad Z = \frac{\text{absorbância}}{D} \times 7,2 \times 10^4$$

$$\text{TBA} = Z \times \% \text{ Recuperação TBA} - \text{resultado em mgMA/Kg amostra}$$

5.3.6. Ácidos graxos

A extração e separação dos lipídios foram realizadas de acordo com MARMER & MAXWELL (1981). Os ácidos graxos foram determinados por meio da saponificação de alíquotas de extrato lipídico, onde 10 mg ($\pm$ 0,1mg) de lipídios foram metilados de acordo com MORRISON & SMITH (1974). O perfil de ácidos graxos foi realizado em cromatógrafo a gás marca “Crhompack” modelo CP9002, equipado com injetor tipo “split” e coluna capilar de sílica fundida “CP-SIL 88” (50m de comprimento x 0,25mm de diâmetro interno). Sendo utilizado como padrão externo, o Lipid Standard SIGMA® -Fatty acid methyl ester mixture # 189-19. A quantificação dos ácidos graxos foi realizada por normalização de área, e a identificação por comparação do tempo de retenção corrigido de ésteres metílicos dos ácidos graxos das amostras e padrões.

5.3.7. Colesterol e Óxidos de Colesterol

O procedimento de extração foi realizado de acordo com MARMER & MAXWELL (1981). Já para o método de determinação com HPLC optou-se por CSALLANY *et al.*, (1989), CHEN & CHEN (1994), adaptado para o laboratório de Bromatologia da FSP-USP por VICENTE (2003). O procedimento constou em tomar uma alíquota do extrato da coluna seca que continha 1g de amostra e adicionar 20mL da solução de clorofórmio-metanol (2:1), seguida de homogeneização em velocidade média por cerca de 1 minuto. O homogenato foi transferido para um funil de separação e lavado duas vezes com 50mL de água. A água da lavagem foi combinada e re-extraída por duas vezes com clorofórmio:metanol (2:1). A camada de clorofórmio foi removida e desidratada, por filtração em sulfato de sódio anidro. Depois da filtração, o solvente foi concentrado em roto-evaporador e evaporado sob nitrogênio. O resíduo foi dissolvido com 3mL de fase móvel, por duas vezes consecutivas. Foi filtrado em membrana, com poro de 0,45 μ m. Após a filtração, a amostra foi concentrada sob nitrogênio.

Foram realizados vários testes e concluímos que a determinação do colesterol e dos óxidos (25-OH, 7-K, 7 α -OH e 7 β -OH), pode ser realizado em uma única

corrida isocrática com cerca de 14 minutos de tempo total. Foi utilizado hexano:2-propanol (97:3 v/v) como fase móvel e fluxo de 1,0mL/min, foram injetados 20µl deste extrato no HPLC da marca TSP (THERMO SEPARATION PRODUCTS) composto de: 1) Bomba (SpectraSystem & Spectra Series Gradient Pumps); 2) Degazeificador (SCM Vacuum Membrane Degasser); 3) Detector UV/VIS (SpectraSystem UV/VIS Detectors); 4) Injetor Automático (SpectraSystem & Spectra Series Autosamplers); Interface SN4000 (SpectraSystem). Foi utilizada uma coluna de fase normal (sílica) de 30 x 0,39cm como porosidade de 10µ ou menos. A detecção foi realizada em 2 canais operando em paralelo, utilizando 206nm para todos os compostos exceto para o 7-K que exibe o máximo de absorção em 233nm.

5.3.8. Validação da Metodologia para o HPLC

Para a determinação do fator de recuperação, precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), linearidade e limite de detecção e quantificação dos compostos de interesse foram utilizados para o processo de extração (item 5.2.8) padrões certificados. Utilização esses padrões foram preparadas soluções com quantidades conhecidas de colesterol, 7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH. Após esta etapa 20µl de cada solução foi injetado 6 vezes no HPLC, a partir daí foram realizados os cálculos para a obtenção dos fatores necessários para a validação da metodologia do HPLC.

5.3.8.1. Recuperação

Buscar o fator de recuperação é determinar a eficiência do método, ou seja, garantir que o analito seja analisado na totalidade de sua massa presente na amostra (LEITE, 1998).

O fator de recuperação é o obtido através da diferença entre o produto matriz sem o analito com o produto matriz com o analito.

$$\text{Fatorrec} = \frac{\text{unidades do analito recuperado} \times 100}{\text{unidades do analito introduzido}}$$

5.3.8.2. Precisão

Denomina-se precisão a concordância entre os vários valores obtidos, quanto mais próximos entre si estiverem, ou seja, maior será a precisão quanto menor for a amplitude das medidas (LEITE, 1998).

São valores de precisão: repetibilidade, reprodutibilidade, desvios e testes de rejeição. A repetibilidade é definida como o grau de concordância entre o grau de medidas independentes do mesmo analito, realizadas sob condições iguais, como o mesmo tipo de amostra, mesmos equipamentos e analista, e o mesmo laboratório. A reprodutibilidade, por outro lado, é o grau de concordância entre resultados de medidas independentes do mesmo analito, realizadas sob condições diversas como diferentes analistas, equipamentos e laboratórios (FEINBEERG & BUGNER, 1989).

A precisão do método analítico é a medida do erro de método e é definida como o acordo entre medidas repetidas da mesma amostra, isto é expresso como a percentagem do coeficiente de variação:

$$\% \text{ de C.V} = (\text{desvio padrão/média}) \times 100$$

5.3.8.3. Linearidade

A busca da linearidade está em obter os resultados em proporção direta às concentrações das substâncias em estudo. A linearidade está relacionada diretamente com o sistema de emissão analítica. Teoricamente a linearidade determina a região da curva de calibração ou de resposta em que a relação direta sinal/concentração, ou seja, é representada pelo coeficiente de correlação, que expressa a variância da inclinação da reta de regressão linear entre dois parâmetros aleatórios (LEITE, 1998).

5.3.8.4. Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção tem significado semelhante à sensibilidade, pode ser definido também como o menor valor detectado do analito estatisticamente diferente do branco, nas condições experimentais (LEITE, 1998; CHAIRMAN *et al.*, 1983).

O limite de quantificação ou a menor concentração que pode ser detectada do analito com certo grau de precisão e rigor aceitável (LEITE, 1998).

Os limites de detecção e de quantificação estão relacionados à metodologia empregada, e também às condições do próprio aparelho. A obtenção de índices menores, para uma mesma metodologia, indica uma maior sensibilidade do aparelho utilizado (RAMOS, 1999).

5.4. Análise Estatística

Foram realizados cálculos de média, desvio padrão, análise de variância e complementada quando necessário com as comparações múltiplas de Bonferroni (NETER, 1996), utilizando o programa SPSS® (“Statistical Package for the Social Sciences”, 2001) for Windows® versão 10.0.

O nível de significância estabelecido para todos os testes estatísticos aplicados foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

6. Resultados e Discussão

6.1. Validação do Método de Quantificação do Colesterol e Óxidos de Colesterol

Para a validação deste método foram realizados ensaios de recuperação, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e linearidade.

A porcentagem de recuperação dos padrões de colesterol e **OsC** adicionados à lingüiça calabresa foram: colesterol - 98,4%, 25-OH - 98,0%, 7-cetocolesterol - 96,0%, 7 α -OH - 96,6% e 7 β -OH - 96,7%.

A precisão é expressa pelos valores de repetibilidade e reprodutibilidade e são traduzidos pelo Coeficiente de Variação (%) e os valores obtidos encontram-se dentro do limite aceitável para as análises realizadas neste trabalho. As Tabelas 1 e 2 expressam os valores encontrados.

Os limites de detecção e quantificação do colesterol e **OsC** (25-OH, 7-Ceto, 7 α -OH, 7 β -OH) foram de $4,54 \times 10^{-8}$, $1,51 \times 10^{-7}$, $4,54 \times 10^{-8}$, $1,51 \times 10^{-7}$, $1,05 \times 10^{-10}$, $3,50 \times 10^{-10}$, $2,27 \times 10^{-9}$, $7,57 \times 10^{-9}$, $9,08 \times 10^{-10}$, $3,03 \times 10^{-9}$, respectivamente (Tabela 3). Índices menores, como os encontrados indicam uma maior sensibilidade do aparelho utilizado para a realização das análises.

Os Coeficientes de regressão linear das curvas de calibração do colesterol e **OsC** citados usados para exprimir a linearidade, variaram de 0,983 a 0,998 (Tabela 4).

O cromatograma com o padrão de colesterol, 7-ceto, 25-OH, 7 α -OH, 7 β -OH, é apresentado na Figura 4.

Tabela 1: Repetibilidade do colesterol e óxidos de colesterol em lingüiça calabresa (n = 6) calculado pelo Coeficiente de Variação (%).

Compostos	Média $\pm$ D.P.	C.V.(%)
Colesterol	1,95 $\pm$ 0,10	0,05
25-OH	1,06 $\pm$ 0,02	0,02
7-Ceto	0,15 $\pm$ 0,001	0,01
7 α -OH	0,05 $\pm$ 0,01	0,10
7 β -OH	0,03 $\pm$ 0,003	0,08

Tabela 2: Reprodutibilidade do colesterol e óxidos de colesterol em lingüiça calabresa (n = 6) calculado pelo Coeficiente de Variação (%).

Compostos	Média $\pm$ D.P.	C.V.(%)
Colesterol	1,88 $\pm$ 0,03	0,02
25-OH	1,04 $\pm$ 0,04	0,04
7-Ceto	0,14 $\pm$ 0,003	0,04
7 α -OH	0,06 $\pm$ 0,001	0,02
7 β -OH	0,03 $\pm$ 0,004	0,11

Tabela 3: Limites de detecção e quantificação do colesterol e óxidos de colesterol nas amostras de lingüiça calabresa (n = 6).

Compostos	Limite de Detecção (g)	Limite de Quantificação (g)
Colesterol	4,54 x 10 ⁻⁸	1,51 x 10 ⁻⁷
25-OH	4,54 x 10 ⁻⁸	1,51 x 10 ⁻⁷
7-Ceto	1,05 x 10 ⁻¹⁰	3,50 x 10 ⁻¹⁰
7 α -OH	2,27 x 10 ⁻⁹	7,57 x 10 ⁻⁹
7 β -OH	9,08 x 10 ⁻¹⁰	3,03 x 10 ⁻⁹

Tabela 4: Correlação linear entre o conteúdo de colesterol e **OsC** e os valores medidos, dentro da faixa de concentração trabalhada.

Compostos	Concentração (μg)	Linearidade (R^2)
Colesterol	2,5 40,0	0,997
25-OH	0,125 – 4,0	0,995
7-Ceto	0,25 – 8,04	0,998
7 α -OH	0,0375 – 1,2	0,998
7 β -OH	0,175 – 10,8	0,983

Figura 4: Cromatograma dos padrões de colesterol, 7-ceto, 25-OH, 7 α -OH , 7 β -OH

Legenda:

1 = Colesterol; 2 = 25-OH; 3 = 7-Ceto; 4 = 7 α -OH; 5 = 7 β -OH

6.2. Caracterização da Composição Centesimal

Alguns dados obtidos nesta pesquisa não estão totalmente de acordo com os obtidos na literatura, pode ser devido ao fato da utilização de cortes diferentes, bem como o teor de gordura utilizada na elaboração das lingüiças. Outro fator também que deve ser levado em consideração é que a maioria dos resultados são obtidos de amostras cruas. Existem experimentos, em outros países, onde o alimento é submetido a vários tipos de processamentos e estes são estocados por períodos longos; existem também trabalhos onde o alimento preparado é submetido a embalagens com atmosferas modificadas, o que não era o intuito deste trabalho, que tinha por objetivo reproduzir o alimento para o consumo.

Os diferentes valores obtidos dentro dos lotes e supermercados podem depender de vários fatores endógenos (ex. músculos, carnes, sexo, espécie e idade) e de fatores exógenos (ex. hábito alimentar), uma vez que as amostras foram submetidas aos mesmos processamentos e tratamentos.

Algumas das diferenças presentes nos fatores analisados se deve ao fato de que as lingüiças a vácuo e a granel têm composição nutricional diferentes. Quando analisado o rótulo do produto observa-se que as lingüiças da embalagem a granel são mais calóricas que as da embalagem a vácuo. O teor de proteína, assim como KCal, carboidratos, lipídios e colesterol apresentaram-se maior nas amostras provenientes da embalagem a vácuo (Tabela 5). Os dados observados nos rótulos dos produtos, são muito semelhantes com os encontrados neste trabalho, existe uma pequena diferença em algumas variáveis, mas isso se deve a fatores endógenos e exógenos que sempre proporcionam alguma alteração de um lote para outro.

Tabela 5: Informação nutricional contida nos rótulos das lingüiças (porção de 60g)

Embalagem	Medidas Resumo	Proteína	Carboidratos	KCal	Gorduras Totais	Gorduras Saturadas	Colesterol
A vácuo	Média	12,5	0	95	5,0	1,5	41
A granel	Média	9,6	0,6	155,4	12,6	4,2	34,2

6.2.1. Umidade

O estudo da comparação entre o teor médio de umidade segundo a Embalagem, o Lote, o Preparo e o Supermercado, revelou que a existência do efeito de interação entre Embalagem e Lote, o que significa dizer que o comportamento da umidade depende conjuntamente da Embalagem e do Lote.

O comportamento entre o teor médio de umidade das amostras segundo o tipo de embalagem (vácuo e granel) e lote, demonstrou que: nos lotes 1 e 4 a embalagem a vácuo apresentou amostras com teor médio de umidade maior que as da embalagem a granel ($p < 0,0001$ - existe diferença estatisticamente significativa); as amostras da embalagem a vácuo e da embalagem a granel nos lotes 2 ($p = 0,15900$) e 3 ($p = 0,0590$) não apresentaram diferença estatisticamente significativa (Tabela 5A). As amostras da embalagem à vácuo tinham uma data de fabricação maior que as da embalagem a granel nos lotes 1 e 4, o que provavelmente proporcionou maior teor de umidade nas linguiças. O mesmo não aconteceu das amostras dos lotes 2 e 3 pois possuíam a mesma data de fabricação nos 2 tipos de embalagens.

Tabela 5A: Tabela da média de umidade e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem

Lote	Medidas Resumo	Umidade(g/100g) Embalagem a Vácuo	Umidade(g/100g) Embalagem a Granel	Nível Descritivo (p)
1	Média	62,87	55,11	$p < 0,0001$
2	Média	62,24	59,74	$p = 0,1590$
3	Média	61,47	58,08	$p = 0,0590$
4	Média	61,90	51,72	$p < 0,0011$

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

O tipo de preparo influenciou no teor de umidade das amostras. A amostra crua (65,47g) apresentou mais umidade que a amostra submetida à fritura (53,65g) ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa). Quando a amostra era grelhada (58,31g) apresentava menos umidade que a amostra crua (65,47g) ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa). A amostra frita (53,65g) apresentou menos umidade que a amostra grelhada (58,31g) ($p < 0,001$ - existe diferença

estatisticamente significativa). Existe diferença estatisticamente significativa entre os três tipos de preparo (Tabela 5B - Figura 6).

Tabela 5B: Tabela da média de umidade segundo preparo

Preparo	Medidas Resumo	Umidade (g/100g)
Cru	N	16
	Média	65,47
	Desvio-padrão	2,74
Frito	N	16
	Média	53,65
	Desvio-padrão	6,35
Grelhado	N	16
	Média	58,31
	Desvio-padrão	4,35

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

A Tabela 5C mostra que o teor de umidade quando analisado com relação à procedência, (supermercados 1 e 2) não apresenta diferença estatisticamente significativa ($p = 0,687$) (Figura 7).

Tabela 5C: Tabela da média de umidade segundo supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	Umidade (g/100g)
1	N	24
	Média	59,32
	Desvio-padrão	6,26
2	N	24
	Média	58,96
	Desvio-padrão	7,32

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

O tipo de preparo interfere nos valores de umidade das lingüiças calabresas analisadas: cru 65,47g, frito 53,65g e grelhado 58,31g, estando próximos aos valores encontrados na literatura. A amostra tende a perder mais água por volatilização por causa da temperatura, enquanto que no preparo grelhado não há uma perda muito grande de água.

SHEARD *et al.* (1998) trabalhando com lingüiças suínas submetidas a 3 diferentes preparos apresentaram os seguintes valores – cru 51,4g, frito 43,8g e

grelhado 44,4g, estando de acordo com a proporção de perda encontrada neste trabalho.

PEREIRA *et al.* (2000) analisando 4 tipos de linguiças cruas obtiveram valores para umidade (56,3g a 70,9g) semelhantes aos encontrados neste trabalho.

O trabalho de BRAGAGNOLO *et al.* (1995) com carne suína apresentaram valores de umidade próximos ao encontrado neste trabalho (64 a 71g).

Observou-se que houve uma alteração no teor de umidade entre as embalagens e os lotes, isso pode ser explicado pelo fato das amostras do lote 1 e 4 da embalagem a vácuo apresentarem grande quantidade de exsudato.

6.2.2. Proteína

O estudo da comparação entre o teor médio de proteína segundo a Embalagem, o Lote, o Preparo e o Supermercado; revelou quando analisado o tipo de embalagem das amostras observou-se que a do tipo a vácuo (22,91g) apresentaram maior teor médio de proteína que as do tipo a granel (20,25g) ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 6 - Figura 8).

Tabela 6: Tabela da média de proteína segundo embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	Proteína (g/100g)
A vácuo	N	24
	Média	22,91
	Desvio-padrão	2,94
A granel	N	24
	Média	20,25
	Desvio-padrão	3,31

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Analisando a Tabela 6A, conclui-se que os quatro lotes apresentaram o mesmo teor médio de proteínas ($p = 0,173$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Figura 9).

Tabela 6A: Tabela da média de proteína segundo lote

Lote	Medidas Resumo	Proteína (g/100g)
1	N	12
	Média	22,46
	Desvio-padrão	3,78
2	N	12
	Média	21,05
	Desvio-padrão	2,99
3	N	12
	Média	21,07
	Desvio-padrão	2,22
4	N	12
	Média	21,72
	Desvio-padrão	4,37

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

O teor de proteínas das amostras sofreu alterações em função do tipo de preparo. O preparo cru (18,38g) apresentou menor teor médio de proteína que o preparo frito (24,12g) ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa). O preparo grelhado (22,23g) apresentou maior teor médio de proteína que o cru (18,38g) ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa). O preparo frito (24,12g) apresentou maior teor médio de proteína que o grelhado (22,23g) ($p = 0,014$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 6B - Figura 10).

Tabela 6B: Tabela da média de proteína segundo preparo

Preparo	Medidas Resumo	Proteína (g/100g)
Cru	N	16
	Média	18,38
	Desvio-padrão	1,78
Frito	N	16
	Média	24,12
	Desvio-padrão	2,37
Grelhado	N	16
	Média	22,23
	Desvio-padrão	2,94

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

As amostras do supermercado 1 (22,40g) apresentaram teor médio de proteínas maior que as do supermercado 2 (20,68g) ($p = 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 6C - Figura 11).

Tabela 6C: Tabela da média de proteína segundo supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	Proteína (g/100g)
1	N	24
	Média	22,4
	Desvio-padrão	3,38
2	N	24
	Média	20,68
	Desvio-padrão	3,19

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Os valores de proteínas variaram de 18,38g a 24,12g. O maior teor de proteína encontrado ocorreram nas lingüiças submetidas à fritura. Valores semelhantes foram descritos por ZANARDI *et al.* (2002).

Valores inferiores de proteínas aos encontrados neste trabalho foram observados por YILMAZ *et al.* (2002); SHEARD *et al.* (1998) e PEREIRA *et al.* (2000).

Essas diferenças observadas entre os valores encontrados no vários trabalhos consultados deve-se ao fato da composição ser diferenciada e da diversidade da carne ou músculo utilizado para a elaboração das lingüiças.

6.2.3. Cinzas

Quando as amostras foram analisadas quanto ao teor de cinzas foi possível observar que o teor médio foi o mesmo tanto para os 2 tipos de embalagens (vácuo e granel) ($p = 0,090$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 7) como para os 2 supermercados ($p = 0,207$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 7A) (Figuras 13 e 15).

Tabela 7: Tabela da média de cinzas segundo embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	Cinzas (g/100g)
A vácuo	N	24
	Média	4,01
	Desvio-padrão	0,35
A granel	N	24
	Média	3,87
	Desvio-padrão	0,46

* Utilizou-se $p \leq 0,05$ **Tabela 7A: Tabela da média de cinzas segundo supermercado**

Supermercado	Medidas Resumo	Cinzas (g/100g)
1	N	24
	Média	3,88
	Desvio-padrão	0,32
2	N	24
	Média	3,99
	Desvio-padrão	0,49

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

As amostras quando submetidas a preparos diferenciados apresentaram alterações no teor de cinzas. O preparo cru (3,58g) apresentou menos cinzas que o preparo frito (4,25) ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa). O preparo grelhado (3,98g) apresentou mais cinzas que o preparo cru (3,58g) ($p = 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa). O preparo frito apresentou mais cinzas que o grelhado (3,98g) ($p = 0,045$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 7B - Figura 14).

Tabela 7B: Tabela da média de cinzas segundo preparo

Preparo	Medidas Resumo	Cinzas (g/100g)
Cru	N	16
	Média	3,58
	Desvio-padrão	0,21
Frito	N	16
	Média	4,25
	Desvio-padrão	0,39
Grelhado	N	16
	Média	3,98
	Desvio-padrão	0,31

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Analisando a Tabela 7C podemos concluir que o teor médio de cinzas variou entre os 4 lotes analisados: lote 1 é igual ao 2 ($p > 0,999$ - não existe diferença estatisticamente significativa); lote 1 é igual ao 3 ($p = 0,406$ - não existe diferença estatisticamente significativa); lote 1 é menor que o 4 ($p = 0,020$ - existe diferença estatisticamente significativa); lote 2 é igual ao 3 ($p > 0,999$ - não existe diferença estatisticamente significativa); lote 2 é igual ao 4 ($p = 0,330$ - não existe diferença estatisticamente significativa); lote 3 é igual ao 4 ($p > 0,999$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Figura 12).

Tabela 7C: Tabela da média de cinzas segundo lote

Lote	Medidas Resumo	Cinzas (g/100g)
1	N	12
	Média	3,76
	Desvio-padrão	0,39
2	N	12
	Média	3,89
	Desvio-padrão	0,39
3	N	12
	Média	3,98
	Desvio-padrão	0,32
4	N	12
	Média	4,12
	Desvio-padrão	0,49

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Os valores de cinzas obtidos neste estudo (3,58g a 4,25g) estão próximos aos encontrados nos trabalhos de SHEARD *et al.* (1998) e PEREIRA *et al.* (2000).

6.2.4. Carboidratos

Os resultados inferenciais que avaliavam o teor médio de Carboidrato segundo Embalagem, Lote, Preparo e Supermercado revelaram a existência do efeito de interação entre Embalagem e Lote; e também entre Embalagem e Preparo.

A Tabela 8 mostra que as amostras da embalagem a vácuo e granel apresentaram o mesmo teor médio de carboidratos nos lotes 1 ($p = 0,3370$ - não existe diferença estatisticamente significativa), 2 ($p = 0,2820$ - não existe diferença

estatisticamente significativa) e 3 ($p = 0,6960$ - não existe diferença estatisticamente significativa). Já as amostras do lote 4 na embalagem a vácuo apresentaram menor teor de carboidrato que as da embalagem a granel ($p < 0,0001$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Figura 16).

Tabela 8: Tabela da média de carboidrato e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem

Lote	Medidas Resumo	Carboidrato Embalagem a Vácuo	Carboidrato Embalagem a Granel	Nível Descritivo (p)
1	Média	3,88	2,52	$p=0,3370$
2	Média	2,29	0,76	$p=0,2820$
3	Média	5,10	4,55	$p=0,6960$
4	Média	1,31	8,63	$p < 0,001$

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Comparando os dois supermercados, observa-se que o no.1 apresentou menor teor de carboidrato que o no. 2 ($p = 0,023$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 8A - Figura 18).

Tabela 8A: Tabela da média de carboidratos segundo supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	Carboidratos
1	N	24
	Média	2,80
	Desvio-padrão	3,13
2	N	24
	Média	4,46
	Desvio-padrão	3,60

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

As amostras da embalagem a vácuo apresentaram o mesmo teor médio de carboidratos que a embalagem a granel quando eram cruas ($p = 0,0960$ - não existe diferença estatisticamente significativa) ou fritas ($p = 0,1800$ - não existe diferença estatisticamente significativa). As amostras da embalagem a vácuo apresentaram menor teor médio de carboidratos que a embalagem a granel quando eram grelhadas ($p = 0,0470$ - existe diferença estatisticamente significativa). Isto é melhor visualizado na Figura 17 (Tabela 8B).

Tabela 8B: Tabela da média de carboidrato e nível descritivo (p) segundo preparo e embalagem

Preparo	Medidas Resumo	Carboidrato Embalagem a Vácuo	Carboidrato Embalagem a Granel	Nível Descritivo (p)
Cru	Média	2,68	4,75	p=0,0960
Frito	Média	3,93	2,28	p=0,1800
Grelhado	Média	2,82	5,31	p=0,0470

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

SHEARD *et al.* (1998) reportam valores bem maiores de carboidratos (12,1 a 15,4%) quando comparados aos encontrados neste trabalho (3,41 a 4,06%). Isto pode ocorrer devido ao fato dos teores de proteínas e lipídios nesta pesquisa serem maiores ao trabalho referenciado.

6.2.5. KCal e KJ

As lingüiças da embalagem a vácuo (175,08KCal e 1031,68KJ) apresentaram menor teor de KCal e KJ que a embalagem a granel (245,18KCal e 1081,87KJ) (Tabela 9 - Figura 19 – KCal e 23 - KJ).

Tabela 9: Tabela da média de KCal e KJ segundo embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	KCAL	KJ
A vácuo	N	24	24
	Média	175,08	1031,68
	Desvio-padrão	26,94	127,97
A granel	N	24	24
	Média	245,18	1081,87
	Desvio-padrão	47,33	172,63

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Os 4 lotes e os 2 supermercados analisados apresentaram amostras com o mesmo teor de KCal e KJ, os valores obtidos podem ser encontrados nas Tabelas 9A e 9B (Figuras 20, 22 – KCal e 24, 26 - KJ), como era de se esperar.

Tabela 9A: Tabela da média de KCal e KJ segundo lote

Lote	Medidas Resumo	KCAL	KJ
1	N	12	12
	Média	211,39	1080,34
	Desvio-padrão	65,56	175,52
2	N	12	12
	Média	203,13	1016,51
	Desvio-padrão	39,52	109,25
3	N	12	12
	Média	200,87	1033,64
	Desvio-padrão	46,38	138,96
4	N	12	12
	Média	225,11	1096,62
	Desvio-padrão	56,20	180,43

* Utilizou-se $p \leq 0,05$ **Tabela 9B: Tabela da média de KCal e KJ segundo supermercado**

Supermercado	Medidas Resumo	KCAL	KJ
1	N	24	24
	Média	209,43	1073,16
	Desvio-padrão	47,45	151,05
2	N	24	24
	Média	210,83	1040,39
	Desvio-padrão	57,24	155,29

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

O tipo de preparo influenciou no valor energético tanto para KCal como para KJ. O preparo frito apresentou-se mais calórico dentre os três analisados. Preparo cru tem menos KCal e KJ que o preparo frito; o grelhado tem mais KCal e KJ que o cru e o frito tem mais KCal e KJ que o grelhado (Tabela 9C - Figuras 21 – KCal e 25 - KJ).

Tabela 9C: Tabela da média de KCal e KJ segundo preparo

Preparo	Medidas Resumo	KCAL	KJ
Cru	N	16	16
	Média	175,09	891,56
	Desvio-padrão	31,28	35,84
Frito	N	16	16
	Média	242,89	1195,22
	Desvio-padrão	54,11	124,38
Grelhado	N	16	16
	Média	212,41	1038,55
	Desvio-padrão	45,96	75,77

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

A lingüiça quando submetida à fritura apresentou-se mais calórica que quando grelhada e isto pode ser verificado para o valor energético, onde ocorre somente mudanças nos coeficientes para cálculo. A este fato pode se atribuir da gordura penetrar no alimento e assim torná-lo mais calórico.

6.3. Valores de Aw (AA) e pH

6.3.1. Aw (AA)

O teor médio de atividade de água das amostras analisadas foram as mesmas para as 2 embalagens ($p = 0,072$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 10 - Figura 27), os 4 lotes ($p = 0,067$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 10A - Figura 28) e os 2 supermercados ($p = 0,995$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 10B - Figura 30).

Tabela 10: Valores de Aw (AA) segundo embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	Aw (AA)
A vácuo	N	24
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,01
A granel	N	24
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,01

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Tabela 10A: Valores de Aw (AA) segundo lote

Lote	Medidas Resumo	Aw (AA)
1	N	12
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,01
2	N	12
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,01
3	N	12
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,01
4	N	12
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,02

* Utilizou-se $p \leq 0,05$ **Tabela 10B: Valores de Aw (AA) segundo supermercado**

Supermercado	Medidas Resumo	Aw (AA)
1	N	24
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,01
2	N	24
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,01

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Novamente o tipo de preparo influenciou em mais uma variável analisada. O preparo cru apresentou atividade de água maior que o frito ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa); o preparo grelhado apresentou menos atividade de água que o cru ($p = 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa); o preparo frito apresentou menos atividade de água que o grelhado ($p = 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 10C - Figura 29).

Tabela 10C: Valores de Aw (AA) segundo preparo

Preparo	Medidas Resumo	Aw (AA)
Cru	N	16
	Média	0,96
	Desvio-padrão	0,00
Frito	N	16
	Média	0,94
	Desvio-padrão	0,01
Grelhado	N	16
	Média	0,95
	Desvio-padrão	0,00

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

As amostras quando submetidas à fritura tendem a ter menos atividade de água, talvez porque ocorre a perda de água do alimento ou um exsudato, favorecido pela temperatura do óleo e pelo tempo de fritura. Em seus experimentos ZANARDI *et al.* (2002) encontraram os mesmos valores de Aw (AA) que os encontrados neste trabalho (0,94 a 0,96).

6.3.2. pH

Notamos através dos resultados inferenciais a existência de interação entre Embalagem e Preparo; bem como entre Lote e Supermercado. Os resultados estão apresentados a seguir.

No preparo cru, o pH das amostras na embalagem a vácuo foi maior que na embalagem a granel ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa). Tanto o preparo frito ($p = 0,3610$ - não existe diferença estatisticamente significativa) como o grelhado ($p = 0,1740$ - não existe diferença estatisticamente significativa) tiveram pH igual para a embalagem a vácuo como a granel (Tabela 11 - Figura 31).

Tabela 11: Tabela da média de pH e nível descritivo (p) segundo preparo e embalagem

Preparo	Medidas Resumo	pH Embalagem a Vácuo	pH Embalagem a Granel	Nível Descritivo (p)
Cru	Média	6,06	5,54	$p < 0,001$
Frito	Média	6,00	5,89	$p = 0,3610$
Grelhado	Média	6,00	5,85	$p = 0,1740$

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Ocorreram algumas alterações no valor de pH das amostras quando comparados os supermercados e os lotes. O supermercado 1 apresentou amostras com pH maior que no supermercado 2 tanto no lote 1 ($p = 0,0020$ - existe diferença estatisticamente significativa) como no lote 2 ($p = 0,0090$ - existe diferença estatisticamente significativa). Já as amostras dos lotes 3 ($p = 0,1750$ - não existe diferença estatisticamente significativa) e 4 ($p = 0,4560$ - não existe diferença estatisticamente significativa) apresentaram o mesmo pH para os 2 supermercados (Tabelas 11A - Figuras 32).

Tabela 11A: Tabela da média de pH e nível descritivo (p) segundo lote e supermercado

Lote	Medidas Resumo	pH Supermercado 1	pH Supermercado 2	Nível Descritivo (p)
1	Média	6,01	5,58	$p=0,0020$
2	Média	6,12	5,76	$p=0,0090$
3	Média	5,91	6,09	$p=0,1750$
4	Média	5,78	5,88	$p=0,4560$

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

YILMAZ *et al.* (2002) e ZANARDI *et al.* (2002) realizaram trabalhos com vários tipos de lingüiças e encontraram valores de pH entre 5,55 a 6,32. Os valores obtidos neste trabalho se assemelham bastante (5,80 a 5,94) e o que se observa é que as amostras fritas e grelhadas possuem pH muito próximos.

6.4. Valores de TBA (Malonaldeído)

Pelo fato da distribuição estatística da informação do TBA não satisfazer a suposição de normalidade, exigida pela Análise de Variância, foi necessário a utilização de uma transformação matemática, desta forma, foi aplicada a transformação logarítmica nos dados de TBA, e assim a análise estatística foi realizada com esses dados transformados.

Os resultados dessa análise revelaram a existência do efeito de interação entre Embalagem e Lote; Embalagem e Supermercado e ainda entre Lote e Supermercado.

Os valores de TBA das amostras na embalagem a vácuo foram iguais as da embalagem a granel nos lotes 1 ($p = 0,0760$ - não existe diferença estatisticamente significativa), 2 ($p = 0,7030$ - não existe diferença estatisticamente significativa) e 3 ($p = 0,1920$ - não existe diferença estatisticamente significativa). O lote 4 ($p < 0,0001$ - existe diferença estatisticamente significativa) mostrou que as amostras na embalagem a vácuo tiveram menor valor de TBA as da embalagem a granel (Tabela 12 - Figura 33).

Tabela 12: Tabela da média de TBA e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem

Lote	Medidas Resumo	TBA (mgMA/Kg) Embalagem a Vácuo	TBA (mgMA/Kg) Embalagem a Granel	Nível Descritivo (p)
1	Média	0,09	0,04	$p=0,0760$
2	Média	0,01	0,02	$p=0,7030$
3	Média	0,04	0,07	$p=0,1920$
4	Média	0,05	0,44	$p<0,0001$

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

As linguiças do supermercado 1 na embalagem a vácuo apresentaram valores menores de TBA que as da embalagem a granel ($p = 0,006$ - existe diferença estatisticamente significativa). Já as amostras do supermercado 2 apresentaram valores de TBA igual para os 2 tipos de embalagens. ($p = 0,853$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 12A - Figura 34).

Tabela 12A: Tabela da média de TBA e nível descritivo (p) segundo supermercado e embalagem

Supermercado	Medidas Resumo	TBA (mgMA/Kg) Embalagem a Vácuo	TBA (mgMA/Kg) Embalagem a Granel	Nível Descritivo (p)
1	Média	0,05	0,24	$p=0,006$
2	Média	0,05	0,04	$p=0,853$

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Nos lotes 1, 2 e 3 as amostras do supermercado 1 apresentaram valores de TBA iguais ao do supermercado 2. O lote 4 apresentou amostras do supermercado 1 com valores maiores de TBA que o supermercado 2 (Tabela 12B - Figura 35).

Tabela 12B: Tabela da média de TBA e nível descritivo (p) segundo lote e supermercado

Lote	Medidas Resumo	TBA (mgMA/Kg) Supermercado 1	TBA (mgMA/Kg) Supermercado 2	Nível Descritivo (p)
1	Média	0,07	0,05	p=0,241
2	Média	0,013	0,015	p=0,695
3	Média	0,05	0,06	p=0,579
4	Média	0,43	0,05	p=0,001

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

O preparo cru tem teor igual de TBA que o preparo frito ($p > 0,999$ - não existe diferença estatisticamente significativa). O preparo grelhado tem mais teor de TBA que o preparo cru ($p = 0,042$ - existe diferença estatisticamente significativa). O preparo frito tem igual teor de TBA que o preparo grelhado ($p = 0,143$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 12C - Figura 36).

Tabela 12C: Valores de TBA segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	TBA (mgMA/Kg)
Cru	N	16
	Média	0,06
	Desvio-padrão	0,13
Frito	N	16
	Média	0,08
	Desvio-padrão	0,20
Grelhado	N	16
	Média	0,13
	Desvio-padrão	0,26

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Fazendo uma revisão da literatura não foram encontrados muitos trabalhos relatando qual seria o limite de malonaldeído que indicaria que o produto/alimento estaria oxidado e conseqüentemente impróprio para o consumo.

MELTON (1983) relatou que sabor/aroma oxidado foram detectados em números de TBA em carne bovina ou suína 0,3-1,0, frango 1,0-2,0 e em peru $> 3,0$.

Segundo BUCKLEY & MORRISEY (1992), números de TBARS (mgMA/Kg) maiores que 1 correlacionaram-se significativamente com escores sensoriais indicativos de oxidação em carnes estocadas sob congelamento.

Neste trabalho foram realizados 3 tipos de preparo das amostras. A lingüiça grelhada foi a que apresentou um escore um pouco mais alto quando comparado aos outros preparos, mas mesmo assim dentro dos limites, não indicando portanto sabor/aroma oxidado ou rancificado.

WANG *et al.* (1995) trabalhando com lingüiça utilizando embalagem a vácuo e atmosfera modificada observava que os valores de TBA aumentaram significativamente com o tempo de armazenamento e temperatura.

6.5. Avaliação da Fração lipídica

Através dos resultados da análise estatística foi observada a existência de interação entre Lote e Supermercado e Lote e Embalagem. As comparações podem ser vistas a seguir. Os valores obtidos com as análises realizadas estão expressos na base seca.

Os valores apresentados nas tabelas com relação a lipídios encontram-se na base seca.

Na Tabela 13 pode ser observado que as amostras da embalagem a vácuo apresentaram que o lote 1<2 ($p<0,007$ - existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 = 3 ($p=0,079$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1<4 ($p<0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 = 3 ($p=0,289$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 2<4 ($p<0,025$ - existe diferença estatisticamente significativa) e lote 3<4 ($p<0,002$ - existe diferença estatisticamente significativa). Na embalagem a granel as amostras apresentaram que o lote 1 = 2 ($p=0,934$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1>3 ($p>0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa), lote 1>4 ($p>0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa), lote 2>3 ($p>0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa), lote 2>4 ($p>0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa) e lote 3 = 4 ($p=0,867$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Figura 38).

Tabela 13: Tabela da média de Lipídios e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem

Lote	Medidas Resumo	Lipídios (g/100g Base seca) Embalagem a Vácuo	Lipídios (g/100g Base seca) Embalagem a Granel
1	Média	15,19	42,11
2	Média	20,80	41,95
3	Média	18,71	34,28
4	Média	25,36	34,60

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Analizando a Figura 39 podemos concluir que o teor médio de lipídios das amostras entre os 3 tipos de preparo a amostra frita apresentou maior teor médio de lipídios seguida pela amostra grelhada (Cru – 26,57g/100g; Frito – 31,29g/100g, Grelhado – 29,52/100g) (Tabela 13A).

Tabela 13A: Valores de Lipídios segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	Lipídios (g/100g Base seca)
Cru	N	16
	Média	26,57
	Desvio-padrão	10,89
Frito	N	16
	Média	31,29
	Desvio-padrão	9,63
Grelhado	N	16
	Média	29,52
	Desvio-padrão	11,88

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

No supermercado No.1 os lote que apresentaram o mesmo teor médio de lipídios foram lote 1 = 4 ($p=0,128$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 = 3 ($p=0,058$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 = 3 ($p=0,735$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 = 4 ($p=0,463$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 3 = 4 ($p=0,691$ - não existe diferença estatisticamente significativa), já o lote 1 apresentou menor teor médio de lipídios que o lote 2 ($p<0,028$ - existe diferença estatisticamente significativa). Já no supermercado No. 2 os lotes que apresentaram o mesmo teor de lipídios foram lote 1 = 2 ($p=0,618$ - não

existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 = 4 ($p=0,850$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 = 4 ($p=0,493$ - não existe diferença estatisticamente significativa); enquanto que o teor médio de lipídios no lote 1>3 ($p>0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa), lote 2>3 ($p>0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa); e o lote 3<4 ($p<0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 13B - Figura 37)

Tabela 13B: Tabela da média de Lipídios e nível descritivo (p) segundo lote e supermercado

Lote	Medidas Resumo	Lipídios (g/100g Base seca) Supermercado 1	Lipídios (g/100g Base seca) Supermercado 2
1	Média	26,79	30,51
2	Média	31,26	31,49
3	Média	30,60	22,38
4	Média	29,82	30,14

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

O maior conteúdo lipídico no produto frito se deveu à absorção do óleo utilizado na fritura, conforme consta na literatura (MAI *et al.*, 1978; AGREN & HÄNNINEN, 1993; CANDELA *et al.*, 1996).

Durante o tratamento térmico de alimentos, pode-se observar tanto a absorção de materiais do meio de processamento, como também a perda de componentes do produto, por evaporação ou por eluição no meio de processamento. Tais alterações são produzidas em função do método utilizado, tempo e temperatura de processamento, tamanho, superfície e composição química do alimento (MAI *et al.*, 1978).

Os valores de lipídios encontrados na literatura não são referidos como base seca, PEREIRA *et al.* (2000), SHEARD *et al.* (1998) e YILMAZ *et al.* (2002) relataram valores de lipídios semelhantes aos determinados neste trabalho.

6.6. Caracterização do Colesterol e Óxidos de Colesterol

6.6.1. Colesterol e Óxidos de Colesterol

A Tabela 14 mostra que o teor médio do colesterol das amostras preparadas de 3 formas diferentes não variaram muito (Cru – 786,41g/100g; Frito – 662,45g/100g, Grelhado – 830,67g/100g) ($p = 0,146$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (os valores apresentados nas tabelas estão expressos na base seca) (Figura 42).

Tabela 14: Valores de Colesterol segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	Colesterol (mg/100g Base seca)
Cru	N	16
	Média	786,41
	Desvio-padrão	692,95
Frito	N	16
	Média	662,45
	Desvio-padrão	599,70
Grelhado	N	16
	Média	830,67
	Desvio-padrão	827,38

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

A embalagem a vácuo e granel apresentaram o mesmo teor médio de colesterol para as amostras analisadas ($p = 0,064$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 14A - Figura 40).

Tabela 14A: Valores de Colesterol segundo o tipo de embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	Colesterol (mg/100g Base seca)
A vácuo	N	24
	Média	828,91
	Desvio-padrão	613,51
A granel	N	24
	Média	690,78
	Desvio-padrão	786,38

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Não foi observada diferença entre os teores médios de colesterol das amostras provenientes dos 2 supermercados ($p = 0,460$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 14B - Figura 43).

Tabela 14B: Valores de Colesterol segundo o supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	Colesterol (mg/100g Base seca)
1	N	24
	Média	734,77
	Desvio-padrão	709,47
2	N	24
	Média	784,92
	Desvio-padrão	707,16

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Quando analisado o teor médio de colesterol das amostras entre os lotes observou-se que ocorreu variação: o lote 1 apresentou teor médio de colesterol igual ao lote 2 ($p = 0,264$ - não existe diferença estatisticamente significativa) e 3 ($p > 0,999$ não existe diferença estatisticamente significativa); o lote 1 apresentou menor teor médio de colesterol que o lote 4 ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa); o lote 2 apresentou igual teor de colesterol que o lote 3 ($p = 0,715$ - não existe diferença estatisticamente significativa); o lote 2 apresentou menor teor de colesterol que o lote 4 ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa) e o lote 3 apresentou menor teor de colesterol que o lote 4 ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 14C - Figura 41).

Tabela 14C: Valores de Colesterol segundo o lote

Lote	Medidas Resumo	Colesterol (mg/100g Base seca)
1	N	12
	Média	478,76
	Desvio-padrão	341,97
2	N	12
	Média	259,58
	Desvio-padrão	142,74
3	N	12
	Média	427,53
	Desvio-padrão	170,78
4	N	12
	Média	1873,51
	Desvio-padrão	318,80

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Os valores obtidos para os óxidos de colesterol - 7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH - indicam a presença da substância em pelo menos 1 das triplicatas, mas a sua quantificação não pode ser realizada com confiabilidade estatística, estando indicados nas tabelas 15, 15A, 15B e 15C como traços.

Tabela 15: Valores dos OsC segundo o tipo de embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	7-Ceto ($\mu\text{g/g}$)	7 α -OH ($\mu\text{g/g}$)	7 β -OH ($\mu\text{g/g}$)
A vácuo	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			
A granel	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			

Legenda: TR = Traço

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Tabela 15A: Valores dos OsC segundo o lote

Lote	Medidas Resumo	7-Ceto ($\mu\text{g/g}$)	7 α -OH ($\mu\text{g/g}$)	7 β -OH ($\mu\text{g/g}$)
1	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			
2	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			
3	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			
4	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			

Legenda: TR = Traço

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Tabela 15B: Valores dos OsC segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	7-Ceto ($\mu\text{g/g}$)	7 α -OH ($\mu\text{g/g}$)	7 β -OH ($\mu\text{g/g}$)
Cru	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			
Frito	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			
Grelhado	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			

Legenda: TR = Traço* Utilizou-se $p \leq 0,05$ **Tabela 15C: Valores dos OsC segundo o supermercado**

Supermercado	Medidas Resumo	7-Ceto ($\mu\text{g/g}$)	7 α -OH ($\mu\text{g/g}$)	7 β -OH ($\mu\text{g/g}$)
1	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			
2	N			
	Média	TR	TR	TR
	Desvio-padrão			

Legenda: TR = Traço* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Analisando o 25-OH os resultados inferenciais apontaram a existência de interação entre Lote e Supermercado.

No supermercado No.1 os lote que apresentaram o mesmo teor médio de lipídios foram lote 1 = 2 ($p=0,810$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 = 3 ($p=0,071$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 = 4 ($p=0,432$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 = 4 ($p=0,584$ - não existe diferença estatisticamente significativa), o mesmo não aconteceu com o lote 2<3 ($p<0,043$ - existe diferença estatisticamente significativa) e o lote 3>4 ($p>0,012$ - existe diferença estatisticamente significativa). Já no supermercado No. 2 os lotes que apresentaram o mesmo teor de lipídios foram lote 1 = 2 ($p=0,316$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 = 3 ($p=0,153$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 = 4 ($p=0,230$ - não existe diferença

estatisticamente significativa), lote 3 = 4 ($p=0,813$ - não existe diferença estatisticamente significativa); enquanto que o teor médio de lipídios no lote 2>3 ($p>0,018$ - existe diferença estatisticamente significativa), lote 2>4 ($p>0,031$ - existe diferença estatisticamente significativa); (Tabela 16 - Figura 44)

Tabela 16: Tabela da média de 25-OH e nível descritivo (p) segundo lote e supermercado

Lote	Medidas Resumo	25-OH ($\mu\text{g/g}$) Supermercado 1	25-OH ($\mu\text{g/g}$) Supermercado 2
1	Média	3,17	3,60
2	Média	2,98	4,38
3	Média	4,59	2,49
4	Média	2,56	2,67

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

No preparo cru as amostras apresentaram menos 25-OH que no preparo frito ($p = 0,010$ - existe diferença estatisticamente significante), no preparo grelhado as amostras apresentaram mais 25-OH que no preparo cru ($p < 0,001$ - existe diferença estatisticamente significante) e no preparo frito as amostras apresentaram mais 25-OH que no preparo grelhado ($p = 0,001$ - existe diferença estatisticamente significante) (Tabela 16A - Figura 46).

Tabela 16A: Valores de 25-OH segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	25-OH ($\mu\text{g/g}$)
Cru	N	16
	Média	3,05
	Desvio-padrão	1,73
Frito	N	16
	Média	3,76
	Desvio-padrão	1,91
Grelhado	N	16
	Média	3,11
	Desvio-padrão	2,14

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

A embalagem a vácuo apresentaram menor teor médio de 25-OH que as amostras da embalagem a granel (Tabela 16B - Figura 45).

Tabela 16B: Valores de 25-OH segundo o tipo de embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	25-OH ($\mu\text{g/g}$)
A vácuo	N	24
	Média	2,05
	Desvio-padrão	1,24
A granel	N	24
	Média	4,56
	Desvio-padrão	1,65

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

A diminuição do teor de colesterol nas amostras submetidas à fritura poderia estar relacionada com a oxidação do colesterol, e conseqüente formação de óxidos, com a sua degradação térmica, ou ainda, com sua eluição no óleo de fritura. O tipo de tratamento térmico a que é submetido o produto, tempo, temperatura e forma de exposição ao calor, podem influenciar no teor de colesterol e óxidos. Por outro lado, não pode ser desconsiderado o fato de que o óleo de soja, utilizado para a fritura, contém antioxidantes, o qual também poderia proteger o colesterol contra a oxidação.

O teor de colesterol das amostras apresentou uma discreta diferença nos três tipos de preparo. Os resultados obtidos neste trabalho são superiores aos encontrados na literatura. Os valores encontrados geralmente são diferentes porque são utilizadas partes de músculos. Dentro da literatura consultada não se encontram muitos valores de colesterol relacionando linguiças.

BRAGAGNOLO *et al.* (2002) trabalhando com vários cortes de carne suína encontraram valores para colesterol entre 42 a 53 mg/100g.

Os valores de colesterol na literatura variaram entre 30 a 98mg/100g. A maioria dos resultados situa-se em torno de 60mg/100g (BRAGAGNOLO *et al.*, 2002).

TU *et al.* (1967) analisaram os músculos de suíno e bovino e estimaram uma concentração média de colesterol éster em torno de 6% do colesterol total. DEVORE (1988) relatou, também em carne bovina, percentual de colesterol éster entre 7,6 e 9,1. MARION & WOODROOF (1965) determinaram percentuais de colesterol éster variando entre 14 e 15% em relação ao colesterol total, para músculo de ave.

Quando se considera a gordura e os óleos animais, este percentual se torna mais elevado, girando em torno de 22% para aves, 26% para banha, chegando até 78,6% para óleo de fígado de bacalhau (PIKUL *et al.*, 1983; LEE *et al.*, 1998).

No presente trabalho o tipo de preparo promoveu o aumento no teor da oxidação do colesterol, e o processamento que proporcionou este fator foi o frito seguido pelo grelhado. Os valores obtidos foram Cru – 3,05µg/g, Frito – 3,76µg/g e Grelhado – 3,11µg/g.

VICENTE (2003) trabalhando com hambúrgueres caseiros e industrializados, submetidos a vários tempos e temperaturas de cozimento não detectou a presença de óxidos de colesterol.

DE VORE (1988) não observou produção de 7-ceto durante processamento de carne bovina. Da mesma forma, RODRIGUEZ ESTRADA *et al.* (1997) submeteram hambúrguer a seis processamentos diferentes e, em todos eles, não foi observado nenhum incremento na concentração de 7-ceto.

Enquanto ZUBILLAGA & MAERKER (1991) observaram concentrações de 7-ceto total de 0,22µg/g em carne de vitela, de 0,06µg/g em carne suína, e 0,83µg/g em carne bovina, PIE *et al.* (1991) relataram para estes mesmos produtos concentrações de 0,71, 0,92 e 1,12µg/g, respectivamente, ou seja, 3,15 e 1,3 vezes maiores. CSALLANY *et al.* (1989) só observaram a formação de 7-ceto livre em carne suína, depois de estocada por 10 dias sob refrigeração. PARK & ADDIS (1985) não detectaram óxido de colesterol em cérebro, fígado e carne bovina, o mesmo ocorrendo na sardinha e na lula estudadas por OSADA *et al.* (1993b). Por outro lado, SHOZEN *et al.* (1995) detectaram concentração total de 7-ceto de 9,8 e 7,9 µg/g, em base seca, para o bacalhau e lula, respectivamente. Estes resultados, calculados para o músculo contendo 80% de umidade, seriam de 1,96 e 1,58 µg de 7-ceto total/g, respectivamente.

MORALES-AIZPURÚA (2001) estudando maionese encontrou 7-ceto (3,66 a 25,80 µg/g) e 25-OH (0,13 a 16,32µg/g).

GUARDIOLA *et al.* (1995), estudando vários alimentos, constataram que muitos deles apresentavam menores concentrações de 7-ceto e de 25-OH ou na maioria das vezes a ausência desse último. Os alimentos foram leite integral em pó, queijo parmesão, queijo cheddar, carnes bovinas e suínas frescas; NOVELLI *et al.*

(1998) avaliara mortadela e salame milano; SARANTINOS *et al.* (1993), pesquisara leites desnatado e integral; MOURA (1999) estudou camarão-rosa fresco, cozido e frito.

É importante salientar que os estudos que comprovam a formação de óxidos de colesterol durante o processamento, geralmente utilizaram períodos prolongados de aquecimento, de 6 12 e até 24 horas (OSADA *et al.*, 1993a). Em situações extremas, como em gordura animal, o aquecimento perdurou por até 200 horas (PARK & ADDIS, 1986a; CHEN *et al.*, 1994). Nestes casos, a oxidação ocorreu de maneira gradual, sendo que a formação de óxidos se iniciou dentro das primeiras horas de aquecimento. No presente estudo, o tempo de grelhagem e de fritura foram de 5 e 10 minutos, respectivamente, pois o interesse era reproduzir, de forma mais fidedigna possível, o processamento usual da lingüiça antes do consumo.

Os dados obtidos nesta pesquisa indicam que na embalagem a granel a presença de óxidos de colesterol é maior que na embalagem a vácuo. ZANARDI *et al.* (2002) em seus experimentos detectaram que embalagem a vácuo é menos eficiente no controle da oxidação que 100% de atmosfera N₂. Nas lingüiças a vácuo os óxidos de colesterol permaneciam estáveis pelas 2 primeiras semanas, e aumentavam três vezes mais após 42 dias de exposição.

WANG *et al.* (1995) trabalhando com lingüiças a vácuo e atmosfera modificada observaram que não existia diferença significativa no conteúdo do colesterol após 2 meses de armazenamento e que a quantia diminuía a partir de 3 meses armazenadas. Os 7 β -OH e 7-ceto foram os óxidos de colesterol que apresentaram maiores valores após 3 meses de armazenamento.

MORALES-AIZPURÚA (2001) trabalhando com maionese detectou 25-OH a partir de 135 dias de estocagem a 25°C, e a partir de 165 dias nas amostras estocadas a 4°C.

Considerando o consumo de lingüiça calabresa (frita, grelhada, etc), e os resultados do presente estudo, é possível considerar, em princípio, significativa a contribuição do referido alimento com a respeito da ingestão de 25-OH, possibilitando os riscos tóxicos inerentes. Mas, as quantidade de OsC contidas nos alimentos, e em particular na lingüiça calabresa, as quais poderiam provocar efeitos

citotóxicos, angiotóxicos, aterogênicos, mutagênicos, carcinogênicos, e/ou outras manifestações possíveis, a literatura pertinente não fornece tais informações.

6.7. Perfil de Ácidos Graxos

6.7.1. Ácido Graxo Saturado

As amostras da embalagem a vácuo (51,04%) (destacando-se o C18:0 - esteárico) apresentaram maior teor de **AG** saturado que a embalagem a granel (38,18%) (destacando-se o C16:0 - palmítico) ($p = 0,003$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 17 - Figura 47).

Tabela 17: Valores de Ácidos Graxos Saturados segundo o tipo de embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	A G Sat (%)
A vácuo	N	24
	Média	51,04
A granel	N	24
	Média	38,18

A G Sat = Ácido Graxo Saturado

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Não foi observada diferença estatisticamente significativa quanto ao teor de **AG** saturado nos 4 lotes analisados ($p = 0,208$) (sobressaindo o C18:0 - esteárico) (Tabela 17A), nos 3 tipos de preparo ($p = 0,587$) (destacando-se o C16:0 - palmítico) (Tabela 17B) e nos 2 supermercados ($p = 0,407$) (prevalecendo o C18:0 - esteárico) (Tabela 17C) (Figura 48, 49 e 50, respectivamente).

Tabela 17A: Valores de Ácidos Graxos Saturados segundo o lote

Lote	Medidas Resumo	A G Sat (%)
1	N	12
	Média	51,29
2	N	12
	Média	45,20
3	N	12
	Média	42,48
4	N	12
	Média	39,47

A G Sat = Ácido Graxo Saturado* Utilizou-se $p \leq 0,05$ **Tabela 17B: Valores de Ácidos Graxos Saturados segundo preparo**

Preparo	Medidas Resumo	A G Sat (%)
Cru	N	16
	Média	44,97
Frito	N	16
	Média	47,00
Grelhado	N	16
	Média	41,86

A G Sat = Ácido Graxo Saturado* Utilizou-se $p \leq 0,05$ **Tabela 17C: Valores de Ácidos Graxos Saturados segundo supermercado**

Supermercado	Medidas Resumo	A G Sat (%)
1	N	24
	Média	46,29
2	N	24
	Média	42,93

A G Sat = Ácido Graxo Saturado* Utilizou-se $p \leq 0,05$

6.7.2. Ácido Graxo Insaturado

Na embalagem a vácuo (48,96%) (destacando-se o C18:1n9t - eláidico) as amostras apresentaram um teor menor de **AG** insaturado que as da embalagem a granel (61,82%) (prevalecendo o C18:1n9c - oléico) ($p = 0,003$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 18 - Figura 51).

Tabela 18: Valores de Ácidos Graxos Insaturados segundo o tipo de embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	A G Ins (%)
A vácuo	N	24
	Média	48,96
A granel	N	24
	Média	61,82

A G Ins = Ácido Graxo Insaturado

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

As amostras provenientes dos 4 lotes ($p = 0,208$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (sobressaindo o C18:1n9c - oléico) (Tabela 18A), e dos 2 supermercados (destacando-se o C18:1n9t - eláidico) ($p = 0,407$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 18B) apresentaram o mesmo teor médio de **AG** insaturado (Figuras 52 e 54).

Tabela 18A: Valores de Ácidos Graxos Insaturados segundo o lote

Lote	Medidas Resumo	A G Ins (%)
1	N	12
	Média	48,71
2	N	12
	Média	54,80
3	N	12
	Média	57,52
4	N	12
	Média	60,53

A G Ins = Ácido Graxo Insaturado

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Tabela 18B: Valores de Ácidos Graxos Insaturados segundo o supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	A G Ins (%)
1	N	24
	Média	53,71
2	N	24
	Média	57,07

A G Ins = Ácido Graxo Insaturado* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Na Figura 53 pode se observar que o tipo de preparo das linguiças não interferiu no teor médio de AG insaturado apresentando assim o mesmo teor ($p = 0,587$) (Tabela 18C).

Tabela 18C: Valores de Ácidos Graxos Insaturados segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	A G Ins (%)
Cru	N	16
	Média	55,03
Frito	N	16
	Média	53,00
Grelhado	N	16
	Média	58,14

A G Ins = Ácido Graxo Insaturado * Utilizou-se $p \leq 0,05$

6.7.3. Ácido Graxo Poliinsaturado

As amostras cruas, fritas e grelhadas apresentaram o mesmo teor médio de AG poliinsaturado (destacando-se o C18:2n6t - linolelaídico) ($p = 0,264$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 19 - Figura 57).

Tabela 19: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	A G Pol (%)
Cru	N	16
	Média	19,43
Frito	N	16
	Média	14,70
Grelhado	N	16
	Média	17,38

A G Pol = Ácido Graxo Poliinsaturado * Utilizou-se $p \leq 0,05$

Nos supermercados 1 e 2 as amostras apresentaram o mesmo teor médio de **AG** poliinsaturado (sobressaindo o C18:2n6t - linolelaídico) ($p = 0,729$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 19A - Figura 58).

Tabela 19A: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo o supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	A G Pol (%)
1	N	24
	Média	16,75
2	N	24
	Média	17,59

A G Pol = Ácido Graxo Poliinsaturado

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Entre os 4 lotes as linguiças apresentaram o mesmo teor médio de **AG** poliinsaturado (revelando o C18:2n6t - linolelaídico) ($p = 0,164$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 19B - Figura 56).

Tabela 19B: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo o lote

Lote	Medidas Resumo	A G Pol (%)
1	N	12
	Média	14,01
2	N	12
	Média	15,14
3	N	12
	Média	18,71
4	N	12
	Média	20,81

A G Pol = Ácido Graxo Poliinsaturado

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

A teor média de **AG** poliinsaturado das amostras entre as 2 embalagens foi a mesma (destacando-se o C18:2n6t - linolelaídico) ($p = 0,648$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 19C - Figura 55).

Tabela 19C: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo a embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	A G Pol (%)
A vácuo	N	24
	Média	17,71
A granel	N	24
	Média	16,63

A G Pol = Ácido Graxo Poliinsaturado* Utilizou-se $p \leq 0,05$

6.7.4. Ácido Graxo Monoinsaturado

Os resultados inferenciais apontaram a existência de interação entre Embalagem e Lote, desta forma a comparação do nível médio de AG monoinsaturado foi feita considerando conjuntamente a Embalagem e Lote.

As amostras submetidas aos diferentes preparos apresentaram o mesmo teor médio de AG monoinsaturado (revelando o C18:1n9c - oléico) ($p = 0,609$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 20 - Figura 60).

Tabela 20: Valores de Ácidos Graxos Poliinsaturados segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	A G Mono (%)
Cru	N	16
	Média	35,60
Frito	N	16
	Média	38,30
Grelhado	N	16
	Média	40,76

A G Mono = Ácido Graxo Monoinsaturado* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Os dois supermercados apresentaram amostras com o mesmo teor de AG monoinsaturado (sobressaindo o C18:1n9t - elaídico) ($p = 0,553$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 20A - Figura 61).

Tabela 20A: Valores de Ácidos Graxos Monoinsaturados segundo supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	A G Mono (%)
1	N	24
	Média	36,95
2	N	24
	Média	39,49

A G Mono = Ácido Graxo Monoinsaturado* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Na Figura 59 podemos observar que nos lotes 1 ($p = 0,2980$ - não existe diferença estatisticamente significativa) e 2 ($p = 0,0900$ - não existe diferença estatisticamente significativa) as amostras das embalagens a vácuo e granel apresentaram o mesmo teor média de AG monoinsaturado. Já nos lotes 3 ($p = 0,0020$ - existe diferença estatisticamente significativa) e 4 ($p = 0,0100$ - existe diferença estatisticamente significativa) as amostras da embalagem a vácuo apresentaram menos teor de AG monoinsaturado que a embalagem a granel (Tabela 20B).

Tabela 20B: Tabela da média de Ácido Graxo Monoinsaturado e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem

Lote	Medidas Resumo	A G Mono (%) Embalagem a Vácuo	A G Mono (%) Embalagem a Granel	Nível Descritivo (p)
1	Média	39,07	30,32	$p=0,2980$
2	Média	32,44	46,88	$p=0,0900$
3	Média	25,04	52,88	$p=0,0020$
4	Média	28,43	51,00	$p=0,0100$

A G Mono = Ácido Graxo Monoinsaturado* Utilizou-se $p \leq 0,05$

As amostras quando submetidas à fritura apresentava 47% de AG saturados e 53% de insaturados; quando a amostra era grelhada apresentava 41,86% de AG saturado e 58,14% de AG insaturado.

ZANARDI *et al.* (2002) trabalhando com lingüiças frescas e maturadas encontraram valores um pouco menores que os aqui reportados, 40% saturados, 47% monoinsaturados e 13% de poliinsaturados. Esses valores vão de acordo com os dados obtidos por ZANARDI *et al.* (2000) quando trabalharam com salame tipo milano.

PEREIRA *et al.* (2000), trabalhando com vários tipos de lingüiças cruas, detectaram que a maioria dos ácidos graxos eram monoinsaturados variando de 45,1 a 50,2%, os poliinsaturados variaram de 14,2 a 17,9% e os saturados de 34,1 a 36,1%.

6.7.5. Ômega 3 (Série n-3)

Pelo fato da distribuição estatística da informação do Ômega 3 (Série n-3) não satisfazer a suposição de normalidade, exigida pela Análise de Variância, foi necessário a utilização de uma transformação matemática, desta forma, aplicou-se a transformação logarítmica nos dados de Ômega 3 (Série n-3), e assim a análise estatística foi realizada com esses dados transformados.

Observou-se o mesmo teor de Ômega 3 (Série n-3) nas amostras analisadas quanto ao tipo de preparo ($p = 0,783$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 21), os 2 supermercados ($p = 0,101$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 21A) e os 2 tipos de embalagens ($p = 0,435$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 21B) (Figuras 63, 64 e 65).

Tabela 21: Valores de Ácidos Graxos Ômega 3 - Série n-3 - segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	Ômega 3 (%)
Cru	N	16
	Média	2,74
Frito	N	16
	Média	2,34
Grelhado	N	16
	Média	2,74

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Tabela 21A: Valores de Ácidos Graxos Ômega 3 - Série n-3 - segundo o supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	Ômega 3 (%)
1	N	24
	Média	2,67
2	N	24
	Média	2,53

* Utilizou-se $p \leq 0,05$ **Tabela 21B: Valores de Ácidos Graxos Ômega 3 - Série n-3 - segundo a embalagem**

Embalagem	Medidas Resumo	Ômega 3 (%)
A vácuo	N	24
	Média	1,86
A granel	N	24
	Média	3,35

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Na Figura 62 podemos observar que no lote 1 as amostras apresentaram maior teor de Ômega 3 (Série n-3) que as do lote 2 ($p = 0,002$ - existe diferença estatisticamente significativa). As amostras apresentaram teor igual de Ômega 3 (Série n-3) quando comparado: lote 1 ao 3 ($p = 0,653$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 ao 4 ($p = 0,146$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 ao 3 ($p = 0,199$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 ao 4 ($p = 0,199$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 3 ao 4 ($p > 0,999$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 21C).

Tabela 21C: Valores de Ácidos Graxos Ômega 3 - Série n-3 - segundo os lotes

Lote	Medidas Resumo	Ômega 3 (%)
1	N	12
	Média	4,76
2	N	12
	Média	0,90
3	N	12
	Média	2,88
4	N	12
	Média	1,88

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

6.7.6. Ômega 6 (Série n-6)

As amostras apresentaram o mesmo teor médio de Ômega 6 (Série n-6) para: os dois tipos de embalagens ($p = 0,204$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 22), o 3 tipos de preparo ($p = 0,329$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 22A) e os 2 supermercados ($p = 0,705$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela B) (Figura 66, 68 e 69).

Tabela 22: Valores de Ácidos Graxos Ômega 6 - Série n-6 - segundo a embalagem

Embalagem	Medidas Resumo	Ômega 6 (%)
A vácuo	N	24
	Média	16,21
A granel	N	24
	Média	13,29

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Tabela 22A : Valores de Ácidos Graxos Ômega 6 - Série n-6 - segundo o preparo

Preparo	Medidas Resumo	Ômega 6 (%)
Cru	N	16
	Média	16,86
Frito	N	16
	Média	12,68
Grelhado	N	16
	Média	14,72

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Tabela 22B: Valores de Ácidos Graxos Ômega 6 - Série n-6 - segundo o supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	Ômega 6 (%)
1	N	24
	Média	14,32
2	N	24
	Média	15,19

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Houve diferença entre os lotes das amostras analisadas para o teor médio de Ômega 6 (Série n-6): lote 1 = 2 ($p = 0,943$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 = 3 ($p = 0,300$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 1 < 4 ($p = 0,019$ - existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 = 3 ($p > 0,999$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 2 = 4 ($p = 0,600$ - não existe diferença estatisticamente significativa), lote 3 = 4 ($p > 0,999$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 22C - Figura 67).

Tabela 22C: Valores de Ácidos Graxos Ômega 6 - Série n-6 - segundo o lote

Lote	Medidas Resumo	Ômega 6 (%)
1	N	12
	Média	9,45
2	N	12
	Média	14,09
3	N	12
	Média	15,95
4	N	12
	Média	19,51

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

6.7.7. Ômega 9 (Série n-9)

Os resultados inferenciais apontaram a existência de interação entre Embalagem e Lote, desta forma a comparação do nível médio de Ômega 9 (Série n-9) foi feita considerando conjuntamente a Embalagem e Lote.

Nos dois supermercados ($p = 0,738$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 23) e nos 3 tipos de preparo ($p = 0,967$ - não existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 23A) as amostras analisadas apresentaram o mesmo teor médio de Ômega 9 (Série n-9) (Figuras 72 e 71).

Tabela 23: Valores de Ácidos Graxos Ômega 9 - Série n-9 - segundo o supermercado

Supermercado	Medidas Resumo	Ômega 9 (%)
1	N	24
	Média	21,64
2	N	24
	Média	20,38

* Utilizou-se $p \leq 0,05$ **Tabela 23A: Valores de Ácidos Graxos Ômega 9 - Série n-9 - segundo o preparo**

Preparo	Medidas Resumo	Ômega 9 (%)
Cru	N	16
	Média	21,48
Frito	N	16
	Média	21,23
Grelhado	N	16
	Média	20,32

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Com relação aos lotes e embalagens ocorreram diferenças: as amostras da embalagem a vácuo apresentaram o mesmo teor de Ômega 9 (Série n-9) que as da embalagem a granel nos lotes 1 ($p = 0,3080$ - não existe diferença estatisticamente significativa) e 4 ($p = 0,6490$ - não existe diferença estatisticamente significativa); as amostras da embalagem a vácuo apresentaram menor teor de Ômega 9 (Série n-9) que as da embalagem a granel nos lotes 2 ($p = 0,0340$ - existe diferença estatisticamente significativa) e 3 ($p = 0,0020$ - existe diferença estatisticamente significativa) (Tabela 23B - Figura 70).

Tabela 23B: Tabela da média de Ácido Graxos Ômega 9 - Série n-9 e nível descritivo (p) segundo lote e embalagem

Lote	Medidas Resumo	Ômega 9 Embalagem a Vácuo	Ômega 9 Embalagem a Granel	Nível Descritivo (p)
1	Média	34,02	26,34	$p = 0,3080$
2	Média	27,41	43,71	$p = 0,0340$
3	Média	2,27	26,47	$p = 0,0020$
4	Média	2,22	5,63	$p = 0,6490$

* Utilizou-se $p \leq 0,05$

Os ácidos graxos da família ômega (Série n-3, n-6, n-9) são de grande interesse epidemiológico e nutricional, mas poucos estudos são realizados a cerca das possíveis modificações que sofrem quando submetidos a algum tipo de processamento térmico. No presente trabalho o tipo de processamento não alterou o teor dos ácidos graxos da família ômega.

CONCLUSÃO

7. Conclusão

- O teor de umidade, proteína, cinzas, carboidratos, calorias, Aw (AA) e pH sofreram alterações quando submetidas aos 3 tipos de preparo e tipo de embalagem;
- Os valores obtido para TBA indicam que as amostras não apresentavam rancidez quando crua e após os vários preparos;
- As lingüiças apresentaram somente traços de 7-ceto, 7 α -OH e 7 β -OH;
- As amostras de lingüiças calabresas quando submetidas a diversos métodos de cocção apresentaram diferentes concentrações de 25-OH;
- O teor de 25-OH variava de acordo com o tipo de processamento e este se tornava mais oxidado quando submetido ao processo de fritura;
- As amostras provenientes da embalagem a granel apresentaram maiores valores de 25-OH;
- O perfil de ácidos graxos não apresentou variação quando as amostras eram submetidas a diferentes preparos;
- As amostras da embalagem a vácuo apresentavam mais ácidos graxos saturados e as amostras da embalagem a granel apresentavam mais ácidos graxos insaturados.

LISTA DE FIGURAS

8. LISTA DE FIGURAS

Figura 5: Gráfico da interação entre Lote e Embalagem, segundo a umidade

Figura 6: Boxplot da Umidade, segundo Preparo

Figura 7: Boxplot da Umidade, segundo Supermercado **Figura 8: Boxplot da Proteína, segundo Embalagem**

Figura 9: Boxplot da Proteína, segundo Lote **Figura 10: Boxplot da Proteína, segundo Preparo**

Figura 11: Boxplot da Proteína, segundo Supermercado **Figura 12: Boxplot das Cinzas, segundo Lote**

Figura 13: Boxplot das Cinzas, segundo Embalagem **Figura 14: Boxplot das Cinzas, segundo Preparo**

Figura 15: Boxplot das Cinzas, segundo Supermercado

Figura 16: Gráfico da interação entre Lote e Embalagem, segundo carboidratos

Figura 17: Gráfico da interação entre Preparo e Embalagem, segundo carboidratos

Legenda: Preparo: 500=Cru; 501=Frito; 502=Grelhado

Figura 18: Boxplot do Carboidrato, segundo Supermercado

Figura 19: Boxplot da KCal, segundo Embalagem **Figura 20: Boxplot da KCal, segundo Lote**

Figura 21: Boxplot da KCal, segundo Preparo **Figura 22: Boxplot da KCal, segundo Supermercado**

Figura 23: Boxplot do KJ, segundo Embalagem **Figura 24: Boxplot do KJ, segundo Lote**

Figura 25: Boxplot do KJ, segundo Preparo **Figura 26: Boxplot do KJ, segundo Supermercado**

Figura 27: Boxplot da Aw (AA), segundo Embalagem **Figura 28: Boxplot da Aw (AA), segundo Lote**

Figura 29: Boxplot da Aw (AA), segundo Preparo **Figura 30: Boxplot da Aw (AA), segundo Supermercado**

Figura 31: Gráfico da interação entre Preparo e Embalagem, segundo o pH

Legenda: Preparo: 500=Cru; 501=Frito; 502=Grelhado

Figura 32: Gráfico da interação entre Lote e Supermercado, segundo o pH

Figura 33: Gráfico da interação entre Embalagem e Lote, segundo TBA

Figura 34: Gráfico da interação entre Embalagem e Supermercado, segundo TBA

Figura 35: Gráfico da interação entre Supermercado e Lote, segundo TBA

Figura 36: Boxplot do TBA, segundo Preparo

Figura 37: Gráfico da interação entre Lote e Supermercado, segundo o Lipídio **Figura 38: Gráfico da interação entre Lote e Embalagem, segundo o Lipídio**

Figura 39: Boxplot dos Lipídios, segundo Preparo **Figura 40: Boxplot do Colesterol, segundo Embalagem**

Figura 41: Boxplot do Colesterol, segundo Lote

Figura 42: Boxplot do Colesterol, segundo Preparo

Figura 43: Boxplot do Colesterol, segundo Supermercado

Figura 44: Gráfico da interação entre Lote e Supermercado, segundo o 25-OH

Figura 45: Boxplot do 25OH, segundo Embalagem **Figura 46: Boxplot do 25OH, segundo Preparo**

Figura 47: Boxplot do Ácido Graxo Saturado, segundo Embalagem

Figura 48: Boxplot do Ácido Graxo Saturado, segundo Lote

Figura 49: Boxplot do Ácido Graxo Saturado, segundo Preparo **Figura 50: Boxplot do Ácido Graxo Saturado, segundo Supermercado**

Figura 51: Boxplot do Ácido Graxo Insaturado, segundo Embalagem

Figura 52: Boxplot do Ácido Graxo Insaturado, segundo Lote

Figura 53: Boxplot do Ácido Graxo Insaturado, segundo Preparo **Figura 54: Boxplot do Ácido Graxo Insaturado, segundo Supermercado**

Figura 55: Boxplot do Ácido Graxo Poliinsaturado, segundo Embalagem

Figura 56: Boxplot do Ácido Graxo Poliinsaturado, segundo Lote

Figura 57: Boxplot do Ácido Graxo Poliinsaturado, segundo Preparo **Figura 58: Boxplot do Ácido Graxo Poliinsaturado, segundo Supermercado**

Figura 59: Gráfico da interação entre Lote e Embalagem, segundo o Ácido Graxo Monoinsaturado

Figura 60: Boxplot do Ácido Graxo Monoinsaturado, segundo Preparo

Figura 61: Boxplot do Ácido Graxo Monoinsaturado, segundo Supermercado

Figura 62: Boxplot do Ômega 3 (Série n-3), segundo Lote

Figura 63: Boxplot do Ômega 3 (Série n-3), segundo Preparo **Figura 64: Boxplot do Ômega 3 (Série n-3), segundo Supermercado**

Figura 65: Boxplot do Ômega 3 (Série n-3), segundo Embalagem **Figura 66: Boxplot do Ômega 6 (Série n-6), segundo Embalagem**

Figura 67: Boxplot do Ômega 6 (Série n-6), segundo Lote **Figura 68: Boxplot do Ômega 6 (Série n-6), segundo Preparo**

Figura 69: Boxplot do Ômega 6 (Série n-6), segundo Supermercado

Figura 70: Gráfico da interação entre Lote e Embalagem, segundo o Ômega 9 (Série n-9)

Figura 71: Boxplot do Ômega 9 (Série n-9), segundo Preparo **Figura 72: Boxplot do Ômega 9 (Série n-9), segundo Supermercado**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9. Referências Bibliográficas (Normas da ABNT *)

1. AGREN, J.J., HÄNNINEN, O. Effects of cooking on the fatty acids of three freshwater fish species. *Food Chem.*, Oxford, v.46, p.377-382, 1993.
2. ANISFELD, M.H. Validation – How Much can the world afford? Are we getting value for money? *PDA Journal Pharmaceutical Science and Technology*, Bethesda, v. 48, n. 1, p. 45-51, 1994.
3. ANSARI, G.A., WALKER, R.D, SMART, V.B. and SMITH, L.L. Further investigations of mutagenic cholesterol preparations. *Food Chem. Toxicol.*, Oxford, v.20, p. 25-41, 1982.
4. [AOAC] - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 16. ed. Arlington, 1995.
5. APTE, S., and MORRISSEY, P.A. Effect of water-soluble haem and non-haem iron complexes on lipid oxidation of heated muscle systems. *Food Chem.*, Amsterdam, 26, p.213-222, 1987.
6. BARANOWSKI, A., ADAMS, C.W.M., BAYLISS HIGH, O.B. and BOWYER, D.B. Connective tissue responses to oxysterols. *Atherosclerosis*, Shannon, 41, p.255-266, 1982.
7. BAYLEY, A.J., LIGHT, N.D. Connective tissue in meat and meat products. *Barking: Elsevier*, p.355, 1989.
8. BETANHO, C. SHIMOKOMAKI, M., OLIVO, R. Estabilidade das emulsões carneas. *Rev. Nac. Carne*, São Paulo, v.18, n.210, p.85-90, 1994.
9. BITTENCOURT JÚNIOR, P.I.H, SENNA, S.M. Ácidos Graxos e Aterosclerose. In CURI, R., POMPEIA, C., MYASAKA, C. K., PROCÓPIO, J. Entendendo a gordura - os ácidos graxos - Editora Manole - 1a ed. Brasileira - Cap. 38, 2002

* de acordo com a norma NBR 6023/2000 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o Chemical Abstracts Service Source Index (Cassi) 1994.

10. BLACK , H.S., and DOUGLAS, D.R. A model system for the evaluation of the role of α -oxide in ultraviolet carcinogenesis. *Cancer Res.*, Baltimore, 32, p.2630-2632, 1972.
11. BLACKBURN, G.M., RASHID, A., THOMSON, M.H. Interaction of 5 α , 6 α cholesterol oxide with DNA and other nucleophiles. *J.C.S. Chem. Comm.*, 1979, p.240: Apud: MORALES-AIZPURÚA, I.C., TENUTA-FILHO, A. Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. *Braz. J. Pharm. Sci. São Paulo*, v.38, n.4, p.431-442, 2002.
12. BRAGAGNOLO, N. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de colesterol em carne suína e bovina e efeito do cozimento. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 15(1): p.11-17, 1995.
13. BRAGAGNOLO, N., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 22(1): p.98-1043, 2002.
14. BRASIL, Decreto n. 1.255, de 25 de junho de 1962 Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Ministério da Agricultura - Dipoa.
15. BREKKE, C.J., AL-HAKIN, S.H., HIGHLANDS, M.E. and HOGAN, J.M. The relation of in vivo and in vitro tocopherol supplementation to stability of fowl fat. *Poult Sci.*, United States, 54, p.2019-2024, 1975.
16. BROWN, M.S. and GOLDSTEIN, J.L. Supression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity and inhibition of growth of human fibroblast by 7-ketocholesterol. *J Biol. Chem.*, Bethesda, 249, p.7306-7314, 1974.
17. BROWN, M.S. and GOLDSTEIN, J.L. Regulation of the activity of the low density lipoprotein receptor in human fibroblast. *Cell*, Cambridge, 6, p.307-316, 1975.
18. BROWN, A.J., JESSUP, W. Oxysterols and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, Shannon, 142, p.1-28, 1999

19. BUCKLEY, J. and CONNOLLY, J.F. Influence of alpha-tocopherol (Vitamin E) on storage stability of raw pork and bacon. *J. Food Prot.*, Des Moines, 43, p.265-267, 1980.
20. BUCKLEY, D.J., MORRISSEY, P.A. Vitamin E and meat quality. Basel: F.Hoffmann La Roche, Vitamins and fine chemicals, 1992, 40p.
[Fotocópia] Apud: MOURA, A.F.P. de . Ocorrência do 7-cetocolesterol e efeito de processamentos térmicos sobre sua formação em camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis* + *Penaeus paulensis*). São Paulo, 1999, 87p.
[Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental].
21. BUCKLEY, D.J., MORRISSEY, P.A., GRAY, J.I. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *J. Anim. Sci.*, Champaign, v.73, p.3122-3130, 1995.
22. CANDELA, M. ASTIASARAN, I., BELLO, J. Effects of frying on the fatty acid profile of some meat dishes. *J. Food Compos. Anal.*, San Diego, v.9, p.277-282, 1996.
23. CANNON, J.E., MORGAN, J.B., SCHMIDT, G.R., TATUM, J.D., SOFOS, J.N., SMITH, G.C., DELMORE, R.J., WILLIAMS. Growth and fresh meat quality characteristics of pigs supplemented with vitamin E. *J. Anim. Sci.*, Champaign, v.74, p.98-105, 1996.
24. CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis Viewpoint and discussion. *J. Chromatogr. B*, Amsterdam, 689, p. 175-180, 1997.
25. CHAIRMAN, L.H.K., CRUMMETT, W., DEEGAN, J.J., LIBBY, R.A., TAYLOR, J.K., WENTLER, G. Principles of environmental analysis. *Anal. Chem.*, Washington, v. 55, n. 14, p. 2210-2218, 1983.
26. CHEAH, K.S., CHEAH, A.M., KRAUSGRILL, D.I. Effect of dietary supplementation of vitamin E on pig meat quality. *Meat Sci.*, Barking, v.39, p.255-264, 1995.

27. CHEN, B.H. & CHEN, Y.C. Evaluation of the analysis of cholesterol oxides by liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, Amsterdam, v.661, p.127-136, 1994.
28. [COMA] - Committee on Medical Aspects of Food Policy Report on Health and Social Subjects No 28, HMSO, London, 1984.
29. CRACKEL, R.L., GRAY, J.I., PEARSON, A.M., BOOREN, A.M., BUCKLEY, O.J. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. *Food Chem.*, Amsterdam, v.28, p.187-96, 1988.
30. CRASTES DE PAULET, A. ASTRUC, M.E., BASCOUL, J., DEFAY, R. Biological effects of oxysterols. In: CRASTES DE PAULET, A., DOUSTE-BLAZY, L., PAOLETTI, R. eds. *Free radicals, lipoproteins and membrane lipids*. New York: Plenum Press, 1990. p. 291-300. (NATO ASI series. Series A, Life Science, v. 189). (Proceedings of a NATO Advanced Research Workshop on Action of Free Radicals and Active Forms of Oxygen on Lipoproteins and Membrane Lipids: cellular interactions and atherogenesis, 1988, Bandol, France).
31. CSALLANY, A.S., KINDOM, S.E., ADDIS, P.B and LEE, J-H. HPLC method for quantification of cholesterol and four of its major oxidation products in muscle and liver tissues. *Lipids*, Champaign, v.24, n. 7, p.645-651, 1989.
32. DAHLE, L.K., HILL, E.G., HOLMAN, R.T. The thiobarbituric acid reaction and the autoxidation of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Arch. Biochem. Biophys.*, New York, 98, p. 253-61, 1962.
33. DE VORE, V.R., TBA values and 7-ketocholesterol in refrigerated raw and cooked ground beef. *J. Food Sci.*, Chicago, v.53, n.4, p.1058-1061, 1988.
34. DIONISI, F., GOLAY, J.M., AESCHLIMANN, and FAY, L.B. Determination of cholesterol oxidation products in milk powders: methods comparison and validation. *J. Agric. Food Chem.*, Columbus, 46, p. 2227-2233, 1998.

35. DIRINCK, P., DE WINNE, A., CASTEELS, M., FRIGG, M. Studies on vitamin E and meat quality. 1. Effect of feeding high vitamin E levels on time-related pork quality. *J. Agric. Food Chem.*, Qashington, v.44, p.65-68, 1996.
36. DONNELLY, J.K. & ROBINSON, D.S. Invited review: Free radicals in foods. *Free Radic. Res.*, Malaysia, v. 22, p. 147-176, 1995.
37. EMANUEL, H.N., HASSEL, C.A., ADDIS, P.B., BERGMANN, S.D. and ZAVORAL, J.H. Plasma cholesterol oxidation products (oxysterols) in human subjects fed a meal rich in oxysterol. *J. Food Sci.*, Chicago, 56, p.843-847, 1991.
38. ENGESETH, N.J., GRAY, J.I, BOOREN, A.M., and ASHGAR, A. Improved oxidative stability of veal lipids and cholesterol through dietary vitamin E supplementation. *Meat Sci.*, Oxford, 35, p.1-15, 1993.
39. ENGESETH, N.J. & GRAY, J.I. Cholesterol oxidation in muscle tissue. *Meat Sciec.*, Oxford, v. 36, p. 309-320, 1994.
40. FEELEY, R.M, CRINER, P.E., WATT, B.K. Cholesterol content of foods. *J. Am. Diet. Assoc.*, Chicago v. 61, p. 134-149, 1972.
41. FEINBEERG, M. & BUGNER, W.L. Chemometrics and food chemistry: data validation. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, v. 223, p.223-235, 1989.
42. FERKET, P.R., QURESHI, M.A., GARLICH, J.D., RIVES, D.V., KIDD, M.T. Vitamin E affects performance, immunity, and meat quality, *World Polut.*, Surrey, v.11, n.2, p.10-15, 1995.
43. FERNADEZ, J., PÉREZ-ÁLVARES, J.A. & FERNÁNDEZ-LOPEZ, J.A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, Amsterdam, v.59, n.3, p.345-353, 1997.
44. FISCHER, K.H., LASKAWY, G., GROSCH, W. 1985. Apud KUBOW, S. Lipid oxidation products in food and atherogenesis. *Nutr. Rev.*, Lawrence, 51 (2), p. 33-40, 1985.
45. FOLCH, J., LESS, M., STANLEY, S.A. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, Bethesda, 226, p. 497, 1957.

46. FONTANA, A., ANTONIAZZI, G., CIAVATTA, M.L., TRIVELLONE, E., CIMINO, G. HNMR study of cholesterol autoxidation in egg powder and cookies exposed to adverse storage. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 58, n. 6, p.1286-1290, 1993.
47. FORREST, J.C., ABERLE, E.D., HEDERICK, H.B., JUDGE, M.D., MERKEL, R.A. "Fundamentos de Ciencia de La Carne" Zaragoza: Ed Acribia, 364p, 1979.
48. FRIGG, M., PRABUCKI, A.L. and RUHDEL, E.U. Effect of dietary vitamin E levels on oxidative stability of Trout fillets. *Aquaculture*, Amsterdam, 84, p.145-158, 1990.
49. GOLD, M.H. Validation: Why, What, When, How Much. *PDA J. Pharm. Sci. and Tech.*, Bethesda, v. 50, n.1, p.55-60, 1996.
50. GRAY, J.I. & MORTON, I.D. Some toxic compounds produced in food by cooking and processing. *J. Hum. Nutr.*, Londres, 35, p. 5-23, 1981.
51. GUARDIOLA, F., CODONY, R., RAFECAS, M., BOATELLA, J. Formación de derivados oxidados del colesterol en alimentos. *Grasas Aceites*, Sevilla, v.46, n.3, p. 202-212, 1995.
52. GUARDIOLA, F., CONODY, R., ADDIS, P.B., RAFECAS, M. and BOATELLA, J. Biological effects of oxysterols: Current status. *Food. Chem. Toxic.*, Oxford, v.34, n. 2, p. 193-211, 1996.
53. GUIDERA, J., KERRY, J.P., BUCLEY, D.J., LYNCH, P.B., MORRISSEY, P.A. The effect of dietary vitamin E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat. *Meat Sci.*, Barking, v.45, n.1, p.33-43, 1997.
54. HARPER, H.A., RODWELL, W.M., MAYES, P.A. Metabolismo dos lipídios. 1. Ácidos graxos. *Manual de Química Fisiológica* 5 ed. São Paulo: Atheneu, p. 22. 334-356, 1982.
55. HERIAN, A.M., KUEHL, N.M., and LEE, K. Growth inhibition of *Mycoplasma gallisepticum* following membrane insertion of cholesterol autoxidation products. *J. Food Prot.*, Des Moines, 48, p.1050-1053, 1985.
56. HIGLEY, N.A., TAYLOR, S.L., HERIAN, A.M., LEE, K. Cholesterol oxides in processed meats. *Meat Sci.*, Oxford, 16, p. 175-188, 1986a.

57. HIGLEY, N.A., BEERY, J.T, TAYLOR, S.L., PORTER, J.W., DZIUBA, J.A., and LALICH, J.J. Comparative atherogenic effects of cholesterol and cholesterol oxides. *Atherosclerosis*, Shannon, 62, p.91-104, 1986b.
58. HODIS, H.N., CRAWFORD, D.W., and SENAVIDAN, A. Cholesterol feeding increases plasma and aortic tissue cholesterol oxide levels in parallel: Further evidence for the role of cholesterol oxidation in atherosclerosis. *Atherosclerosis*, Shannon, 89, p.117-126, 1991.
59. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3ed. São Paulo, IMESP, 1985.
60. INSTRUÇÃO NORMATIVA No. 4, DE 31 DE MARÇO DE 2000 - ANEXO III - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça [http://www.defesaagropecuaria.gov.br/sda/dipoa/anexo3_in-04_2000.htm]
61. JENSEN, C. SKIBSTED, L.H., JAKOBSEN, K., BERTELSEN, G. Supplementation of broiler diets with all- α - or a mixture of natural source α , γ , β -tocopherol acetate. 2. Effect on the oxidative stability of raw and precooked broiler meat products. *Polut. Sci.*, Champaign, v.74, p.2048-2056, 1995.
62. JIMÉNEZ-COLMENERO, F., CARBALLO, J., COFRADES, S. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Sci.*, Oxford, 59, p. 5-13, 2001
63. JONES, J.M. Factors influencing poultry meat quality . In: Johnston, D.E.; Knight, M.K.; LEWARD, D.A., eds. *The chemistry of muscle based foods*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, Cambridge, p.27-39, 1992
64. KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Radical. Biol. Med.*, New York, 12, p. 63-81, 1992.
65. KUBOW, S. Lipid oxidation products in food and atherogenesis. *Nutr. Rev.*, Lawrence, 51(2), p. 33-40, 1993.

66. KUCUK, O. STONER-PICKING, J. YACHNIN, S. GORDON, L.I., WILLIAMS, R.M., LIS, J. and WESTERMAN, M.P. Inhibition of NK cell-mediated cytotoxicity by oxysterols. *Cell. Immunol*, New York, 139, p.541-549, 1992.
67. KUMAR, N. and SINGHAL, O.P. Cholesterol oxides and atherosclerosis: A review. *J. Sci. Food Agric.*, Bognor Regis, 55, p. 511-519, 1991.
68. LADIKOS, D. & LOUGOVOIS, V. Lipid oxidation in muscle foods: a review. *Food Chem.*, Amsterdam, 35, p. 295-314, 1990.
69. LAIRON, D. Dietary fatty acids and atherosclerosis. *Biomed & Pharmacother*, Paris, 51, p.333-336, 1997.
70. LAKRITZ, L. and MAERKER, G. Effect of ionizing radiation on cholesterol in aqueous dispersion. *J Food Sci.*, Chicago, 54, p.1569-1572, 1989.
71. LAVELE, C.L., HUNT, M.C., KROPF, D.H. Display life and internal cooked color of ground beef from vitamin E-supplemented steers. *J. Food Sci.*, Chicago, v.60, n.6, p.1175-1196, 1995.
72. LEE, M., SU, N., YANG, M., WANG, M., CHOONG, Y. A rapid method for direct determination of free cholesterol in lipids. *J. Chin. Agric. Chem. Soc.*, Taipei, v.36, n.2, p.123-133, 1998.
73. LEHNINGER, A.L. *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 532p, 1984
74. LEITE, F. *Validação em análise química*. 3 ed., 224p., São Paulo, 1998.
75. LIMA, C.R., BARROS, F.F.C.B., e PADOVESE, R. Alterações químicas mais frequentes dos ácidos graxos em alimentos. In CURI, R., POMPEIA, C., MYASAKA, C. K., PROCÓPIO, J. *Entendendo a gordura - os ácidos graxos* - Editora Manole - 1a ed. Brasileira - Cap. 30, São Paulo, 2002.
76. LIN, T.S., HULTIN, H.O. Oxidation of myoglobin in vitro mediated by lipid oxidation in microsomal fractions of muscle. *J. Food Sci.*, Chicago, v.42, p.136-139, 1997.

77. LISEISEN, J. and WOLFRAM, G. Absorption of cholesterol oxidation products. *Z. Ernwiss.*, 36 (1997), 38 (Abstr.), (1997). Apud: LINSEISEN, J. and WOLFRAM, G. Origin, metabolism, and adverse health effects of cholesterol oxidation products. *Lipids*, Champaign, 100, n.6, S211-18, 1998.
78. LINSEISEN, J. and WOLFRAM, G. Origin, metabolism, and adverse health effects of cholesterol oxidation products. *Lipids*, Champaign, 100, n.6, S211-18, 1998a.
79. LINSEISEN, J. and WOLFRAM, G. Absorption of cholesterol oxidation products from ordinary foodstuff in humans. *Ann. Nutr. Metab.*, Basel, v.42, p.221-230, 1998b.
80. LISERRE, A.M., LANDGRAF, M., DESTRO, M.T., FRANCO, B.D.G.M. Inhibition of *Listeria Monocystogenes* by a bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* strain in modified atmosphere-packaged Brazilian sausage. *Meat Science*, Oxford, 61, p.449-455, 2002.
81. LIU, Q., LANARI, M.C., SCHAEFER, D.M. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *J. Anim. Sci.*, Champaign, v.73, p.3131-3140, 1995.
82. LIU, Q., SCHELLER, K.K., ARP, S.C., SCHAEFER, D.M., FRIGG, M. Color coordinates for assessment of dietary vitamin E effects on beef color stability. *J. Anim. Sci.*, Champaign, v.74, p.106-116, 1996.
83. LUBY, J.M., GRAY, J.I. and HARTE, B.R. Effects of packaging and light source on the oxidative stability of cholesterol in butter. *J. Food Sci.*, Chicago, 51, p.908-911, 1986.
84. MAERKER, G., BUNICK, F.J. Cholesterol oxides II. Measurement of the 5,6 epoxides during cholesterol oxidation in aqueous dispersion. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, Champaign, v.63, p.771-777, 1986.
85. MAERKER, G. Cholesterol autoxidation-current status. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, Champaign, v. 64, n. 3, p. 388-392, 1987.
86. MAERKER, G. and JONES, K.C. Unusual product ratios resulting from the gamma-irradiation of cholesterol in liposomes. *Lipids*, Champaign, 26, p.139-144, 1991.

87. MAHAN, L.K. Escott-Stumps S. Krauser – Alimentos, nutrição e dietoterapia. 9ª ed. São Paulo: Roca, 1998.
88. MAI, J., SHIMP, J., WEIRAUCH, J. & KINSELLA, J.E. Lipids of fish fillets: changes following cooking by different methods. J. Food Sci., Chicago, v.43, p.1669-1674, 1978.
89. MARION, J.E., WOODROOF, J.G. Lipid fractions of chicken broiler tissues and their fatty acid composition. J. Food Sci., Chicago, v.30, p.38-43, 1965.
90. MARMER, W.N., MAXWELL, R.J. Dry column method for the quantitative extraction and simultaneous class separation of lipids from muscle tissue. Lipids, Champaign, 16, p.365-71, 1981.
91. MATTSON, F.H., ERICKSON, B.A. KLIGMAN, A.M. Effect of dietary cholesterol on serum cholesterol in man. Am. J. Clin. Nutr, Bethesda, v.25, p.589-594, 1972.
92. MELTON, S.L. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. Food Technol., Chicago, 37, p:105-111, 1983
93. MONAHAN, F.J., GRAY, J.I., BOOREN, A.M., MILLER, E.R., BUCKLEY, D.J., MORRISSEY, P.A., and GOMMA, E.A. Influence of dietary treatment on lipid and cholesterol oxidation in pork. J. Agric. Food Chem., Columbus, 40, p.1310-1315, 1992.
94. MONAHAN, F.J., ASGHAR, A., GRAY, J.I., BUCKLEY, D.J., MORRISSEY, P.A. Effect of oxidized dietary lipid and vitamin E on the colour stability of pork chops. Meat Sci., Barking, v.37, p.205-215, 1994.
95. MORALES-AIZPURÚA, I.C.M. Formação de óxidos de colesterol em maionese mantida em diferentes condições de estocagem. São Paulo, 2001, [Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental].
96. MORALES-AIZPURÚA, I.C., TENUTA-FILHO, A. Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, São Paulo, v.38, n.4, p.431-42, 2002.

97. MOREL, D.W., LIN, C.Y. Cellular biochemistry of oxysterols derived from the diet or oxidation in vivo. *Nutr. Biochem.*, New York, v.7, p. 495-506, 1996.
98. MORRISON, W.R., SMITH, L.M. Preparation of fat acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluorid-methanol. *J. Lipid Res.*, Bethesda, 5, p.600-8, 1974.
99. MORRISSEY, P.A., SHEEHY, P.J.A., GALVIN, K., KERRY, J., BUCLEY, D.J. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.*, Barking, v.49, suppl., p.S73-S86, 1998. [International Congress of Meat Science and Technology, 44., Barcelona, 1998].
100. MOURA, A.F.P.de. Ocorrência do 7-cetocolesterol e efeito de processamentos térmicos sobre sua formação em camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis* + *Penaeus paulensis*). São Paulo, 1999, 87p. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental].
101. NETER, J., KUTNER, M.H., NACHTSCHEIM, C.J., WASSERMAN, W. *Applied linear statistical models*. 4th ed., Irwin, Boston, 1408p., 1996.
102. NOUROOZ-ZADEH, J. and APPELQVIST, L. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: Fresh eggs and dehydrated egg products. *J. Food Sci.*, Chicago, 52, p. 57-62, 67, 1987.
103. NOVELLI, E., ZANARDI, E., GHIRETTI, G.P., CAMPANNI, G., DAZZI, G. MADARENA, G., CHIZZOLINI, R. Lipid and cholesterol oxidation in frozen stores pork, salame milano and mortadela. *Meat Science*, Oxford, v.48, n.1/2, p.29-49, 1998.
104. OLIVEIRA, H.C.F., QUINTÃO, E.C.R. Colesterol na aterogênese. In: QUINTÃO, E.C.R. *Colesterol na aterogênese*. Rio de Janeiro: Quality Mark, cap. 3, p.47-55, 1992.
105. OLIVER, M.F. Diet and coronary heart disease. *Brit. Med. Bull.*, , 37, p. 49, 1981.

106. OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. Aplicação de colágenos em embutidos cárneos. In: SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA USP. 8. São Paulo, 1993. Programa e Resumos. São Paulo, Coordenadoria de Comunicação Social USP, p.18, 1993.
107. OLIVO, R., HATANO, M.K., SHIMOKOMAKI, M. Propriedades funcionais do colágeno. In: SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA USP. 9. São Paulo. 1994. Programa e Resumos. São Paulo. FCF-SP, p.76, 1994.
108. OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. Carnes: no caminho da pesquisa. – Editora Cocal -- Cocal do Sul: IMPRINT, Brasil, 2001.
109. OSADA, K. KODAMA, T., YAMADA, K., SUGANO, M. Oxidation of cholesterol by heating. J. Agric. Food Chem., Washington, v.41, p.1198-1202, 1993a.
110. OSADA, K. KODAMA, T., CUI, L., YAMADA, K., SUGANO, M. Levels formation of oxidized cholesterols in processed marine foods. J. Agric. Food Chem., Washington, v.41, p.1893-1898, 1993b.
111. OSADA, K., SASAKI, E., SUGANO, M. Lymphatic absorption of oxidized cholesterol in rats. Lipids, Champaign, 29, p.555-559, 1994.
112. PANIANGVAIT, P., KING, A.J., JONES, A.D. and GERMAN, B.G.A critical review Cholesterol oxides in foods of animal origin. J. Food Sci., Chicago, v. 60, n. 6, 1995.
113. PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E.R. de; PARDI, H.S. Ciência, higiene e tecnologia da carne. Ed. UFG, Goiânia, Brasil, Vol.1., 1993.
114. PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E.R. de; PARDI, H.S. Ciência, higiene e tecnologia da carne. Volume II - Tecnologia da carne e de subprodutos. Processamento tecnológico. Ed. UFG, Goiânia, Brasil, 514p., 1994.
115. PARK, S.W. & ADDIS, P.B. HPLC determination of C-7 oxidized cholesterol derivatives in foods. J. Food Sci., Chicago, 50, p. 1437-1441, 1985.

116. PARK, S.W. and ADDIS, P.B. Further investigation of oxidized cholesterol derivatives in heated fats. *J. Food Sci., Chicago*, 51, p.1380-1381, 1986.
117. PARK, S.W. and ADDIS, P.B. Identification and quantitative estimation of cholesterol derivatives in heated tallow. *J. Agric. Food Chem., Washington*, v.34, p.653-659, 1986.
118. PARK, S.W. and ADDIS, P.B. Cholesterol oxidation products in some muscle foods. *J. Food Sci., Chicago*, 52, p.1500-1503, 1987.
119. PEARSON, A.M., LOVE, J.D., and SHORLAND, F.B. "Warmed-over" flavor in meat, poultry and fish. *Adv. Food Res., United States*, 23, p.1-74, 1977.
120. PEARSON, A.M., GRAY, J.I., WOLZAK, A.M., HORENSTEIN, N.A. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technol, Chicago*, 37(7), p.121-9, 1983.
121. PENG, S., HU, B., MORIN, R.J. Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. *J. Clin. Anal., New York*, v. 5, p. 144-152, 1991.
122. PEREIRA, N.R., TARLEY, C.R.T., MATSUSHITA, M. and SOUZA, N.E. de. Proximate composition and fatty acid profile in Brazilian poultry sausages. *J Food Compos. Anal., San Diego*, 13, p.915-920, 2000.
123. PIE, J.E., SPAHIS, K., and SEILLAN, C. Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. *J. Agric. Food Chem., Columbus*, 39, p.250-254, 1991.
124. PIKUL, J. LESZCZYNSKI, D.E., KUMMEROW, F.A. Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluene additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat. *J. Agric. Food Chem., Washington*, v.31, p.1338-1342, 1983.
125. POMPÉIA, C. Essencialidade dos Ácidos Graxos. In CURI, R., POMPÉIA, C., MYASAKA, C. K., PROCÓPIO, J. Entendendo a gordura - os ácidos graxos - Editora Manole - 1a ed. Brasileira - Cap. 3, São Paulo, 2002.
126. PONGILUPPI, S. Aspetti Microbiologici Della Produzione Farmacêutica Sterile. Considerazioni ed Esperienze. *Bollettino Chimico Farmaceutico, Milano*, v. 124, n. 7, p. 293-305, 1985.

127. PRYOR, W.A., STANLEY, J.P., BLAIR, E. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids. II. A suggested mechanism for the formation of TBA-reactive materials from prostaglandin-like endoperoxides. *Lipids*, Champaign, 11, p. 370-9, 1976.
128. RAMIREZ-TORTOSA, C., LÓPEZ-PEDROSA, J.M., SUAREZ, A., ROS, E., MATAIX, J., GIL, A. Olive oil-and fish oil-enriched diets modify plasma lipids and susceptibility of LDL to oxidative modification in free-living male patients with peripheral vascular disease: the Spanish Nutrition Study. *Brit. J. of Nutr.*, London, (82), p. 31-9, 1999.
129. RAMOS, K.S. Efeito do processamento sobre a concentração de ferro heme em carnes em pulmão bovino. 1999 [Dissertação de Mestrado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo].
130. RETAILER Benefits from abtioxidante. *Meat Int.*, Doetinchem, v.7, p.10-12, 1997.
131. RODRIGUEZ, R.J. ARUNACHALAM, T.A., PARKS, L.W. and CASPI, E. Growth of a sterol auxotroph derived from *Saccharomyces cerevisiae* on chemically synthetized derivatives of cholesterol possessing side-chain modifications. *Lipids*, Champaign, 18, p.772-775, 1983.
132. RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T., PENAZZI, G., CABONI, M.F., BERTACCO, G. & LERCKER, G. Effect of different cooking methods some lipid and protein components of hamburgers. *Meat Sci.*, Oxford, v. 45, n. 3, p. 365-375, 1997.
133. ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis – an update. *N. Engl. J. Med.*, Waltham, 314, p. 488-500, 1986.
134. SANDERS, S.K. MORGAN, J.B., WULF, D.M., TATUM, J.D., WILLIAMS, S.N., SMITH, G.C. Vitamin E supplementation of cattle and shelf-life of beef for the japonese market. *J. Anim. Sci.*, Champaign, v.75. p.2634-2640, 1997.
135. SANTOS, T.M. & SANTOS, J.E. Lipídios. In Oliveira, J. E. D. de; Santos, A. C.; Wilson, E. D. *Nutrição básica*. São Paulo, Sarvier, p. 15-28, 1982.

136. SARANTINOS, J., O'DEA, K. and SINCLAIR, A.J. Cholesterol oxides in Australian foods: Identification and quantification. Food Aust., North Sydney, 45, p. 485-490, 1993.
137. SCHAEFER, D.M., LIU, Q., FAUSTMAN, C. Y, M.C. Supranutritional administration of vitamins E and C improves stability of beef. J. Nutr., Philadelphia, v.125, suppl., p.1792S-1798S, 1995.
138. SCHERBECK, J.A., WULF, D.M., MORGAN, J.B., TATUM, J.D., SMITH, G.C., WILLIAMS, S.N. Dietary supplementation of vitamin E to feedlot cattle affects beef retail display properties. J. Food Sci., Chicago, v.60, n.2, p.250-252, 1995.
139. SENAVIAN, A., PETERSON, A.R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. Food Chem. Toxicol., Oxford, v.24, n.10/11, p.1103-1110, 1986.
140. SGARBIERI, V.C. Metabolismo celular e importância nutricional dos lipídios. Aliment. Nutr., , Cap. 5, p. 110-121, 1987.
141. SHAHIDI, F., RUBIN, J., WOOD, D.F. Control of lipid oxidation in cooked meats by combinations of antioxidants and chelators. Food Chem., Amsterdam, 23(2), p.151-7, 1987.
142. SHEARD, P.R., NUTE, G.R. & CHAPPELLE, A.G. The effect of cooking on the chemical composition of meats products with special reference to fat loss. Meat Science, Oxford, v.49, n.2, p.175-191, 1998.
143. SHOZEN, K., OHSHIMA, T., USHIO, H., KOIZUMI, C. Formation of cholesterol oxides in marine fish products induced by grilling. Fisheries Sci., Tokyo, v.61, n.5, p.817-821, 1995.
144. SLIMANI, N., CHARRONDIERE, V.R., van STRAVEREN, W. Ad RIBOLI, E. Standardization of food composition databases for the European Prospective Investigatin into Cancer and Nutrition (EPIC): General Theoretical Concept. J. Food Comp Anal., San Diego, 13, p.567-584, 2000.
145. SMITH, L.L. Cholesterol autoxidation. New York: Plenum Press; p.49-123, 1981.

146. SMITH, L.L., SMART, V.B. and MADE GOWDA, N.M. Mutagenic sterol hydroperoxides. *Mutation Research*, , 161, p. 39-48, 1986.
147. SMITH, L.L. and JOHNSON, B.H. Biological activities of oxysterols. *Free Radical Biol. Med.*, New York, 7, p.285-332, 1989.
148. SMITH, L.L. Cholesterol autoxidation. Plenum Press, New York, p.49-123, 1981. Apud: SMITH, L.L. Review of progress in sterols oxidation: 1987-1995. *Lipids*, Champaign, v. 31, n. 5, p. 453-487, 1996.
149. [SPSS] Software para Análise Estatística SPSS for Windows [programa de computador]. Versão 10.0 Chicago: SPSS Inc., 2001.
150. STIEBING, A. Requerimientos para la carne y los productos carnicos. *Fleischwirtsch*, Frankfurt, v.2, p. 39-44, 1993
151. SUÍNOCULTURAINDUSTRIAL
www.suinoculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=5478&tipo_tabela=negocios&categoria=estatisticas, 2003
152. TAI, C.Y, CHEN, Y. C. and CHEN, B. H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: an overview (Part I). *J. Food Drug Analysis*, Nankang, 7(4): 243-257, 1999.
153. TARLADGS, B.G., PEARSON, A.M., DUGAN Jr., L.R. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. II. Fromation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat tratment. *J.Sci. Food. Agric.*, Bognor Regis, 15, p. 602-4, 1964.
154. TICHIVANGA, J.Z., and MORRISSEY, P.A. Metmyoglobin and inorganic metals as pro-oxidants in raw and cooked muscle systems. *Meat Sci.*, Oxford, 15, 107-116, 1985.
155. TSAI, L.S., HUDSON, C.A., IJICHI, K. and MEEHAN, J.J. Quantification of cholesterol α -oxide in eggs by gas chromatography and high-performance liquid chromatography. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, Champaign, 56, p.185A, 1979.
156. TORRES, E.A.F.S. Oxidação lipídica em charque. São Paulo, 1987 [Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP].

157. TORRES, E.A.F.S., PEARSON, A.M., GRAY, J.I and KU, P.K. Lipid oxidation in charqui (Salted and Dried Beef). Food Chem., Amsterdam, 32, p. 257-268, 1989.
158. TORRES, E.A.F.S., OKANI, E.T. Teste de TBA: ranço em alimentos. Revista Nacional da Carne, São Paulo, 243, p. 68-76, 1997.
159. TU, C. POWRIE, W.D., FENNEMA, O. Free and esterified cholesterol content of animal muscles and meat products. J. Food Sci., Chicago, v.32, p.30-34, 1967.
160. USDA. United State Department of AGriculture. FASonline. www.fas.usda.gov/commodities - livestock and poultry: world market and trade, 2003
161. van de BOVENKAMP, P., KOSMEIJER-SCHUIL, T.G. and KATAN, M.B. Quantification of oxysterols in Dutch goods: Egg products and mixed diets. Lipids, Champaign, 23, p.1079-1085, 1988.
162. VICENTE, S.J.V. Formação de óxidos de colesterol em hambúrguer bovino em função do binômio tempo/temperatura de preparação. São Paulo, 2003, 78p. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Saúde Pública – Universidade de São Paulo].
163. VINE, D.F., CROFT, K.D., BEILIN, L.J., MAMO, J.C.L. Absorption of dietary cholesterol oxidation products and incorporation into rat lymph chylomicrons. Lipid, Champaign, 32, p.887-893, 1997.
164. WANG, F-S., JIANG, Y-N & LIN, C-W. Lipid and cholesterol oxidation in Chinese-style sausage using vacuum and modified atmosphere packaging. Meat Science, Oxford, 40, p.93-101, 1995.
165. WATANABE, N., NAKAMURA, R., HOSONO, A. Mutagenic activity of heat-induced cholesterol-degradation products. J. Food Sci., Chicago, v.53, n.6, p.1913-1914, 1988.
166. WATT, B., MERRILL A.L., Composition of foods: raw, processed, prepared. Washington, DC: Consumer and Food Economics Research Division/Agricultural Research Service, 1963. 198p. (AGriculture Handbook, 8)

167. WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Geneva, 1982. WHO Technical Report Series.
168. XIONG, Y.L., DECKER, E.A. Alterations of muscle protein functionality by oxidative and antioxidative processes. J. Muscle Foods, Barking, 6(2), p. 139-60, 1995.
169. YILMAZ, I., SIMSEK, O., ISIKLI, M. Fatty acid composition and quality characteristics of low-fat cooked sausages made with beef and chicken meat, tomato juice and sunflower oil. Meat Science, Oxford, 62, p.253-258, 2002.
170. ZAIA,, D.A.M. Os lipídios e a origem da vida. In: CURI, R., POMPEIA, C., MYASAKA, C. K., PROCÓPIO, J. Entendendo a gordura - os ácidos graxos - Editora Manole - 1a ed. Brasileira - Cap. 1, São Paulo, 2002.
171. ZANARDI, E. NOVELLI, E., GHIRETTI, G.P. & CHIZZOLINI, R. Oxidative satbility of lipids and cholesterol in salame milano, coppa, and Parma ham: dietary supplementation with vitamin E and oleic acid. Meat Science, Oxford, 55, P.169-175, 2000.
172. ZANARDI, E. DORIGONI, V., BADIANI, A., CHIZZOLINI, R. Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packaging conditions. Meat Science, Oxford, 61, p.7-14, 2002.
173. ZHANG, J., LARSON, O., AND SJÖVALL, J. 7 α -hydroxylation of 25-hydroxycholesterol and 27-hydrxycholesterol in human fibroblasts. Biochim. Biophys. Acta, Orlando, 1256, p.353-359, 1995
174. ZUBILLAGA, M.P., MAERKER, G. Quantification of three cholesterol oxidation products in raw meat and chicken. J. Food Sci., Chicago, v.56, n.5, p.1194-1197, 1991.
175. ZUNIN, P., EVANGELISTA, F., CABONI, M.F., PENAZZI, G., LERCKER, G., TISCORNIA, E. Cholesterol oxidation in baked foods containing fresh and powdered eggs. J. Food Sci., Chicago, 60, p. 913-6, 1995.