

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**ÓXIDOS DE COLESTEROL, COLESTEROL, LIPÍDIOS  
TOTAIS E ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS CÁRNEOS  
PROCESSADOS**

**SUELI REGINA BAGGIO**

**Farmacêutica Industrial  
Mestre em Ciência de Alimentos**

**Profa. Dra. NEURA BRAGAGNOLO**

**Orientadora**

**Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos**

**Campinas, SP, 2004**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

B146o Baggio, Sueli Regina  
Óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e ácidos  
graxos em produtos cárneos processados / Sueli Regina Baggio.  
– Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Neura Bragagnolo  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Óxidos de colesterol. 2.Colesterol. 3.Lipídios. 4.Ácidos  
graxos. I.Bragagnolo, Neura. II.Universidade Estadual de  
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Neura Bragagnolo  
(orientadora)

---

Profa. Dra. Lúcia Maria Valente Soares  
(membro)

---

Profa. Dra. Maria Regina Bueno Franco  
(membro)

---

Dra. Jane G. Menegaldo Snow  
(membro)

---

Profa. Dra. Célia Maria de Sylos  
(membro)

---

Dr. Expedito Tadeu Facco Silveira  
(membro)

---

Prof. Dr. Pedro Eduardo de Felício  
(membro)

Campinas, de de 2004

**DEDICO ESTE TRABALHO**

**A DEUS, PELA MINHA EXISTÊNCIA,  
REALIZAÇÃO E CONQUISTA.  
AOS MEUS PAIS ADELINO E ALAIDE  
E ÀS MINHAS IRMÃS SIMONE E  
SANDRA, PELO INCENTIVO, APOIO E  
AMOR.**

***"OS GRANDES NAVEGADORES DEVEM SUA  
REPUTAÇÃO AOS TEMPORAIS E ÀS TEMPESTADES."  
(Epicuro)***

## **AGRADECIMENTOS**

**À Profa. Dra. Neura Bragagnolo, pela orientação, dedicação, apoio e amizade.**

**Aos membros da banca examinadora, pelas sugestões apresentadas para a redação final da tese.**

**À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro ao desenvolvimento deste trabalho.**

**Ao Centro de Química de Alimentos & Nutrição Aplicada do ITAL, em especial à Ana Maria Rauen de Oliveira Miguel, pela oportunidade, apoio e realização deste trabalho.**

**Aos colegas do laboratório de Bromatologia, pela amizade, incentivo e companheirismo.**

**Ao Eduardo Vicente, pela colaboração e dedicação na execução das análises com CG-MS.**

**Ao Roberto Machado de Moraes, pelo apoio e contribuição para a realização deste trabalho.**

**À minha família, que mesmo distante, esteve sempre presente, dando força, apoio e incentivo.**

**A todos que, direta ou indiretamente, me incentivaram e contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.**

**ÍNDICE**

|                                         |              |
|-----------------------------------------|--------------|
| <b>RESUMO GERAL .....</b>               | <b>xxiii</b> |
| <b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>           | <b>1</b>     |
| <b>OBJETIVOS .....</b>                  | <b>5</b>     |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b> | <b>6</b>     |

**Capítulo 1****REVISÃO BIBLIOGRÁFICA****PRODUTOS CÁRNEOS: PROCESSAMENTO E TEORES DE COLESTEROL,  
ÓXIDOS DE COLESTEROL E ÁCIDOS GRAXOS**

|                                                                                                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>RESUMO .....</b>                                                                                | <b>13</b> |
| <b>SUMMARY.....</b>                                                                                | <b>13</b> |
| <b>1 – INTRODUÇÃO .....</b>                                                                        | <b>14</b> |
| <b>2 – PROCESSAMENTO DOS PRODUTOS CÁRNEOS .....</b>                                                | <b>20</b> |
| <b>3 – COLESTEROL E ÓXIDOS DE COLESTEROL EM PRODUTOS CÁRNEOS<br/>PROCESSADOS .....</b>             | <b>22</b> |
| <b>4 – LIPÍDIOS TOTAIS E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS<br/>CÁRNEOS PROCESSADOS .....</b> | <b>30</b> |
| <b>5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                                        | <b>33</b> |

---

**Capítulo 2****VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA, POR CLAE, DE COLESTEROL E ÓXIDOS DE COLESTEROL EM PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS**

|                                             |           |
|---------------------------------------------|-----------|
| <b>RESUMO .....</b>                         | <b>43</b> |
| <b>SUMMARY.....</b>                         | <b>44</b> |
| <b>1 – INTRODUÇÃO .....</b>                 | <b>45</b> |
| <b>2 – MATERIAL E MÉTODOS .....</b>         | <b>47</b> |
| <b>2.1 – Material e Reagentes .....</b>     | <b>47</b> |
| <b>2.2 – Métodos .....</b>                  | <b>48</b> |
| <b>2.2.1 – Análise Estatística .....</b>    | <b>50</b> |
| <b>3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>     | <b>51</b> |
| <b>4 – CONCLUSÃO .....</b>                  | <b>56</b> |
| <b>5 – AGRADECIMENTOS .....</b>             | <b>56</b> |
| <b>6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b> | <b>57</b> |

**Capítulo 3****CHOLESTEROL OXIDES, CHOLESTEROL AND FATTY ACIDS IN PROCESSED TURKEY MEAT PRODUCTS**

|                                                                                                                        |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                                                                   | <b>63</b> |
| <b>INTRODUCTION .....</b>                                                                                              | <b>64</b> |
| <b>MATERIALS AND METHODS .....</b>                                                                                     | <b>65</b> |
| <b>Materials .....</b>                                                                                                 | <b>65</b> |
| <b>Sample preparation.....</b>                                                                                         | <b>65</b> |
| <b>Lipid extraction .....</b>                                                                                          | <b>65</b> |
| <b>Simultaneous determination of cholesterol and cholesterol oxides by high performance liquid chromatography.....</b> | <b>66</b> |
| <b>Determination of the fatty acid composition .....</b>                                                               | <b>67</b> |
| <b>Statistical analysis .....</b>                                                                                      | <b>68</b> |



|                                           |           |
|-------------------------------------------|-----------|
| <b>RESULTS AND DISCUSSION .....</b>       | <b>68</b> |
| <b>Total lipids and cholesterol .....</b> | <b>68</b> |
| <b>Cholesterol oxides .....</b>           | <b>69</b> |
| <b>Fatty acid composition .....</b>       | <b>71</b> |
| <b>ACKNOWLEDGMENTS .....</b>              | <b>72</b> |
| <b>REFERENCES .....</b>                   | <b>72</b> |

## Capítulo 4

### **PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS BOVINOS, SUÍNOS E MISTOS: TEORES DE ÓXIDOS DE COLESTEROL, COLESTEROL, LIPÍDIOS TOTAIS E ÁCIDOS GRAXOS**

|                                                                                                                                            |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>RESUMO .....</b>                                                                                                                        | <b>87</b>  |
| <b>SUMMARY.....</b>                                                                                                                        | <b>88</b>  |
| <b>1 – INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                | <b>89</b>  |
| <b>2 – MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                                                                        | <b>91</b>  |
| <b>2.1 – Material .....</b>                                                                                                                | <b>91</b>  |
| <b>2.2 – Métodos .....</b>                                                                                                                 | <b>93</b>  |
| <b>2.2.1 – Determinação simultânea de óxidos de colesterol e<br/>colesterol .....</b>                                                      | <b>95</b>  |
| <b>2.2.2 – Determinação da composição de ácidos graxos .....</b>                                                                           | <b>96</b>  |
| <b>2.2.3 – Análise estatística .....</b>                                                                                                   | <b>97</b>  |
| <b>3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                    | <b>97</b>  |
| <b>3.1 – Produtos processados de carne bovina .....</b>                                                                                    | <b>97</b>  |
| <b>3.2 – Produtos processados de carne suína .....</b>                                                                                     | <b>101</b> |
| <b>3.3 – Produtos cárneos processados mistos .....</b>                                                                                     | <b>105</b> |
| <b>3.4 – Comparação dos teores de colesterol, lipídios totais e composição<br/>de ácidos graxos nos produtos cárneos processados .....</b> | <b>109</b> |
| <b>3.5 – Óxidos de colesterol .....</b>                                                                                                    | <b>113</b> |
| <b>4 – CONCLUSÃO .....</b>                                                                                                                 | <b>115</b> |
| <b>5 – AGRADECIMENTOS .....</b>                                                                                                            | <b>115</b> |

---

|                                             |            |
|---------------------------------------------|------------|
| <b>6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b> | <b>116</b> |
|---------------------------------------------|------------|

## **Capítulo 5**

### **DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ÓXIDOS DE COLESTEROL, COLESTEROL, LIPÍDIOS TOTAIS E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS PROCESSADOS DE CARNE DE FRANGO E DE CHESTER**

|                                                                                       |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>RESUMO .....</b>                                                                   | <b>123</b> |
| <b>SUMMARY.....</b>                                                                   | <b>124</b> |
| <b>1 – INTRODUÇÃO .....</b>                                                           | <b>125</b> |
| <b>2 – MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                   | <b>126</b> |
| <b>2.1 – Material .....</b>                                                           | <b>126</b> |
| <b>2.2 – Métodos .....</b>                                                            | <b>126</b> |
| <b>2.2.1 – Determinação simultânea de óxidos de colesterol e<br/>colesterol .....</b> | <b>128</b> |
| <b>2.2.2 – Determinação da composição de ácidos graxos .....</b>                      | <b>129</b> |
| <b>2.2.3 – Análise estatística .....</b>                                              | <b>129</b> |
| <b>3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                               | <b>130</b> |
| <b>3.1 – Colesterol e óxidos de colesterol .....</b>                                  | <b>130</b> |
| <b>3.2 – Lipídios totais e composição de ácidos graxos .....</b>                      | <b>132</b> |
| <b>4 – CONCLUSÃO .....</b>                                                            | <b>138</b> |
| <b>5 – AGRADECIMENTOS .....</b>                                                       | <b>138</b> |
| <b>6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                           | <b>138</b> |

---

**Capítulo 6****EFEITO DO TEMPO DE ESTOCAGEM NA FORMAÇÃO DE ÓXIDOS DE COLESTEROL E ALTERAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS**

|                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>RESUMO .....</b>                                                                              | <b>143</b> |
| <b>SUMMARY.....</b>                                                                              | <b>144</b> |
| <b>1 – INTRODUÇÃO .....</b>                                                                      | <b>145</b> |
| <b>2 – MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                              | <b>146</b> |
| <b>2.1 – Material .....</b>                                                                      | <b>146</b> |
| <b>2.2 – Métodos .....</b>                                                                       | <b>147</b> |
| <b>2.2.1 – Determinação simultânea de óxidos de colesterol e<br/>colesterol .....</b>            | <b>147</b> |
| <b>2.2.2 – Determinação da composição de ácidos graxos .....</b>                                 | <b>148</b> |
| <b>2.3 – Análise estatística .....</b>                                                           | <b>149</b> |
| <b>3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                          | <b>149</b> |
| <b>3.1 – Efeito do tempo de estocagem no teor de colesterol e óxidos de<br/>colesterol .....</b> | <b>149</b> |
| <b>3.2 – Efeito do tempo de estocagem no teor de lipídios totais .....</b>                       | <b>151</b> |
| <b>3.3 – Efeito do tempo de estocagem na composição de ácidos<br/>graxos .....</b>               | <b>153</b> |
| <b>4 – CONCLUSÃO .....</b>                                                                       | <b>159</b> |
| <b>5 – AGRADECIMENTOS .....</b>                                                                  | <b>159</b> |
| <b>6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                                      | <b>159</b> |

---

**Capítulo 7****EFEITO DO PREPARO TÉRMICO SOBRE OS ÓXIDOS DE COLESTEROL, COLESTEROL, LIPÍDIOS TOTAIS E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS**

|                                                                                       |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>RESUMO .....</b>                                                                   | <b>165</b> |
| <b>SUMMARY.....</b>                                                                   | <b>166</b> |
| <b>1 – INTRODUÇÃO .....</b>                                                           | <b>167</b> |
| <b>2 – MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                   | <b>168</b> |
| <b>2.1 – Material .....</b>                                                           | <b>168</b> |
| <b>2.2 – Métodos .....</b>                                                            | <b>169</b> |
| <b>2.2.1 – Determinação simultânea de óxidos de colesterol e<br/>colesterol .....</b> | <b>170</b> |
| <b>2.2.2 – Determinação da composição de ácidos graxos .....</b>                      | <b>171</b> |
| <b>2.2.3 – Análise estatística .....</b>                                              | <b>171</b> |
| <b>3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                               | <b>172</b> |
| <b>4 – CONCLUSÃO .....</b>                                                            | <b>183</b> |
| <b>5 – AGRADECIMENTOS .....</b>                                                       | <b>183</b> |
| <b>6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                           | <b>184</b> |

**ANEXOS**

|                      |            |
|----------------------|------------|
| <b>Anexo 1 .....</b> | <b>191</b> |
| <b>Anexo 2 .....</b> | <b>196</b> |
| <b>Anexo 3 .....</b> | <b>197</b> |

## RESUMO GERAL

Produtos cárneos processados como lingüiça, salsicha, mortadela, presunto e salame são muito apreciados pela população, mas, em geral, são considerados alimentos que apresentam altos teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos saturados. O alto teor de colesterol sanguíneo é uma das causas das doenças cardíacas coronarianas e o colesterol sanguíneo é influenciado não só pelo teor de colesterol dos alimentos como também pela quantidade de ácidos graxos saturados. Além disso, o colesterol é um lipídio insaturado susceptível à oxidação, levando à formação de vários produtos de oxidação, os quais são considerados mais prejudiciais que o próprio colesterol na formação de placas ateroscleróticas e estão associados a vários efeitos biológicos indesejáveis. Os ácidos graxos *trans* também estão relacionados com o desenvolvimento de ateroscleroses e doenças cardiovasculares, são mais preocupantes que os ácidos graxos saturados porque além de aumentarem o nível de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), diminuem o nível de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Assim, o presente trabalho teve por objetivo determinar os teores de óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados e verificar o efeito do preparo térmico e do armazenamento sobre estes componentes.

Foram analisados produtos processados de carne de peru (salsicha, almôndegas, hambúrguer, presunto defumado e não defumado, peito defumado, blanquete e roulé); de cheddar (mortadela, salsicha, lingüiça e hambúrguer); de frango (mortadela, salsicha e lingüiça); suína (presunto, apresuntado e lingüiça), bovina (jerked beef, almôndegas e hambúrguer) e de composição cárnea mista (salsicha “hot-dog”, mortadela e salame). A partir da mesma extração lipídica, de acordo com FOLCH *et al.* (1957), foram determinados os lipídios totais por gravimetria, os ácidos graxos por cromatografia gasosa com coluna capilar CP-SIL 88 (50m x 0,25mm; 0,20µm) e a determinação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol por cromatografia líquida de alta eficiência.

O método para a determinação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol, utilizando detector por conjunto de diodos fixado a 210nm e detector

por índice de refração, em série, foi validado utilizando-se amostras de produtos cárneos processados de peru. O método foi validado através da recuperação, repetibilidade, limite de detecção, limite de quantificação e comparação dos resultados obtidos pelos dois detectores utilizados. Nas condições cromatográficas utilizadas, foram separados o colesterol e os seguintes óxidos de colesterol: colest-4,6-dieno-3-ona, 20 $\alpha$ -hidroxicoolesterol, 25-hidroxicoolesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxicoolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicoolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicoolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicoolesterol e 7-cetocolesterol. A identificação do colesterol e dos óxidos de colesterol foi realizada através da comparação do tempo de retenção do padrão e o da amostra, espectros de absorvância e co-cromatografia, e a confirmação por espectrometria de massas. Foram identificados e confirmados nas amostras analisadas o colesterol, o 7-cetocolesterol e o 5,6 $\beta$ -epoxicoolesterol. O colesterol e o 5,6 $\beta$ -epoxicoolesterol foram quantificados pelo detector por índice de refração e o 7-cetocolesterol pelo detector por conjunto de diodos. O método mostrou-se eficiente, exato e preciso, com recuperações e coeficientes de variação de 90% e 0,55, 91% e 0,12, 94% e 0,30 para o colesterol, 7-cetocolesterol e 5,6 $\beta$ -epoxicoolesterol, respectivamente.

Nos produtos processados de carne de peru o 7-cetocolesterol variou de não detectado no blanquete, peito defumado e roulé a 1,84 $\mu$ g/g de amostra na salsicha e o 5,6 $\beta$ -epoxicoolesterol variou de não detectado nas almôndegas, no blanquete, no hambúrguer, no peito defumado, no presunto e na salsicha a 4,50 $\mu$ g/g de amostra no roulé. Nos produtos cárneos processados bovinos e mistos o 7-cetocolesterol foi o único óxido de colesterol encontrado, sendo em uma amostra de hambúrguer bovino (3,2 $\mu$ g/g), em duas amostras de salsichas "hot-dog" (1,6 e 2,0 $\mu$ g/g) e em uma amostra de mortadela (2,6 $\mu$ g/g). Os produtos processados de carne suína, frango e chester não apresentaram óxidos de colesterol.

O teor de colesterol não apresentou diferença significativa entre os produtos processados de carne de peru, variando de 32 no blanquete e no peito defumado a 43mg/100g de amostra no presunto defumado. Entre os produtos processados de carne de frango e de chester, o teor de colesterol variou de 31 no hambúrguer

de chester a 64mg/100g de amostra na salsicha de chester. Nos produtos cárneos processados bovinos, suínos e mistos o teor de colesterol variou de 22 no apresuntado a 59mg/100g de amostra no salame.

Os teores de lipídios totais nos produtos processados de carne de peru variaram de 1,1 no peito defumado a 14g/100g de amostra nas almôndegas. Nos produtos processados de carne de frango e de chester esta variação foi de 8 na salsicha de chester a 19,1g/100g de amostra na mortadela de frango. Nos produtos cárneos processados bovinos, suínos e mistos variaram de 3 no presunto a 25g/100g de amostra no salame Italiano.

Os principais ácidos graxos identificados nos produtos cárneos processados analisados foram: C18:1 $\omega$ 9, C18:2 $\omega$ 6, C16:0, C18:0 e C16:1 $\omega$ 7, mas nem sempre na mesma ordem. Considerando o teor de lipídios totais das amostras analisadas, o ácido graxo C18:2 $\omega$ 6 foi encontrado em maior concentração nos produtos cárneos processados mistos, seguido dos produtos processados de carne de chester. O ácido graxo C18:0 apresentou maior teor nos produtos cárneos processados suínos. Apenas o roulé e o peito defumado de peru não apresentaram ácidos graxos *trans*. Nas demais amostras foram encontrados os isômeros *trans* C18:1 $\omega$ 9 e C18:2 $\omega$ 6, sendo que o primeiro apresentou maior incidência, variando de não detectado a 600mg/100g de amostra nos produtos cárneos de peru, de 8 a 40mg/100g de amostra nos produtos cárneos de frango e de chester, de 6 a 40mg/100g de amostra nos produtos cárneos suínos, de 40 a 100mg/100g de amostra nos produtos cárneos mistos e de 100 a 400mg/100g de amostra nos produtos cárneos bovinos. O ácido graxo isômero *trans* C18:2 $\omega$ 6 variou de não detectado a 70mg/100g de amostra nos produtos cárneos de peru, de 10 a 90mg/100g de amostra nos produtos cárneos bovinos e não foi encontrado nos produtos cárneos de frango, chester, suínos e mistos.

Para o estudo realizado sobre o efeito do tempo de estocagem sobre os produtos cárneos processados, utilizou-se amostras de jerked beef, salame tipo Italiano, mortadela de frango e mortadela de chester. As amostras de jerked beef e de salame Italiano foram armazenadas em suas embalagens originais e dentro de caixas de papelão à temperatura de 25<sup>0</sup>C, as amostras de mortadela de frango e

de chester foram armazenadas nas mesmas condições, porém sob refrigeração a 6°C. Não houve formação de nenhum óxido de colesterol durante o tempo total de estocagem das amostras, sendo este de 90 dias para as amostras de mortadelas e de 120 dias para as de jerked beef e salame Italiano. Os teores de colesterol e de lipídios totais não apresentaram diferença significativa entre os diferentes tempos de estocagem (zero, 30, 60, 90 e 120 dias). Não houve alteração significativa na composição de ácidos graxos entre os diferentes tempos de estocagem.

O efeito do preparo térmico foi observado em amostras de almôndegas e hambúrguer (bovinos), lingüiça toscana (suína), salsicha “hot-dog” (composição mista), salsicha e lingüiça (frango e chester) e hambúrguer (chester). O preparo das almôndegas foi realizado conforme as instruções contidas na embalagem do produto para forno convencional a gás. O forno foi pré-aquecido a uma temperatura de 250°C, as almôndegas congeladas foram colocadas em uma assadeira de alumínio levemente untada com óleo de soja e assadas por 20 minutos. Os hambúrguers congelados foram retirados de suas embalagens originais e foram grelhados em uma chapa a uma temperatura inicial de 165°C. Cada lado dos hambúrguers foi grelhado por 4 minutos, conforme instruções de preparo contidas na embalagem do produto. As amostras de lingüiça toscana foram grelhadas em uma grelha por 30 minutos. As lingüiças de frango e de chester foram preparadas conforme uma das instruções contidas na embalagem para forno convencional a gás. O forno foi pré aquecido a uma temperatura de 240°C, enforrou-se as lingüiças assando-as por 25 minutos. As salsichas foram retiradas de suas embalagens originais e cozidas em água destilada a 98°C numa panela comum por cerca de 10 minutos. Não houve formação de nenhum óxido de colesterol com o preparo térmico das amostras. Apenas os teores de colesterol entre a lingüiça suína crua e grelhada e entre o hambúrguer de chester cru e grelhado foram significativamente menores nas amostras grelhadas, assim como os teores de lipídios totais entre o hambúrguer bovino cru e grelhado. Observou-se alterações na composição de ácidos graxos somente entre as amostras de hambúrguer bovino cru e grelhado.



## INTRODUÇÃO GERAL

O colesterol é largamente distribuído nos alimentos de origem animal e está presente em todas as membranas celulares. Concentrações elevadas de colesterol sangüíneo em indivíduos têm sido relacionado com ateroscleroses e doenças cardiovasculares (KEYS, 1970; ANDERSON *et al.*, 1973; REISER, 1978), que são a principal causa de morte natural no Brasil e em muitos outros países.

A AMERICAN HEART ASSOCIATION (2003) recomenda, para indivíduos com níveis normais de colesterol sangüíneo, uma ingestão diária de lipídios totais menor ou igual a 30% do total de calorias, gordura saturada menor que 10% e colesterol menor que 300mg/dia. No entanto, a ingestão de colesterol em indivíduos que apresentam doenças cardíacas deve ser menor que 200mg/dia. Níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) iguais ou maiores que 160mg/dL aumentam o risco de doenças cardíacas. De acordo com McNAMARA (1990) o colesterol sangüíneo sofre maior influência da quantidade de gordura e da composição de ácidos graxos ingeridos na dieta, principalmente os ácidos graxos saturados e os isômeros *trans*, que do próprio colesterol.

O colesterol é susceptível à oxidação, podendo levar à formação de vários óxidos de colesterol durante o processamento do alimento quando exposto a temperaturas elevadas, ar, luz, radiação ou à combinação destes fatores (SMITH, 1987; HUBBARD *et al.*, 1989). Além disso, condições impróprias de armazenamento podem facilitar a formação dos produtos da oxidação do colesterol (PANIANGVAIT *et al.*, 1995). Geralmente, temperatura, pH, luz, oxigênio, atividade de água e a presença de ácidos graxos insaturados são os fatores que mais influenciam na formação dos óxidos de colesterol durante o processamento e o armazenamento dos alimentos (DIONISI *et al.*, 1998). Embora mais de oitenta óxidos de colesterol sejam conhecidos, os óxidos de colesterol comumente encontrados nos alimentos são: 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol e colestano-4,6-dieno-3-ona (FINOCCHIARO & RICHARDSON, 1983; SANDER *et al.*,

1989). Destes óxidos de colesterol, o 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7-cetocolesterol, 20 $\alpha$ -hidroxicoolesterol e o 25-hidroxicoolesterol são produtos primários da oxidação do colesterol, enquanto que o 7 $\alpha$ -hidroxicoolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicoolesterol, colestano-4,6-dieno-3-ona e o colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol são produtos secundários (TAI *et al.*, 1999). O 25-hidroxicoolesterol e o colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol são os óxidos de colesterol considerados mais citotóxicos, pois podem inibir completamente o crescimento e desenvolvimento celular. Este efeito foi observado em vários experimentos realizados “in vitro” com culturas de células musculares aórticas de coelhos, células embrionárias de hamsters, células musculares de artérias e fibroblastos de ratos, macrófagos e células vasculares de porcos. Alguns estudos “in vivo” com coelhos sugeriram um possível mecanismo relacionado com a alteração do sistema imune induzido pelos óxidos de colesterol, observando uma inibição sobre os primeiros estágios da divisão dos linfócitos, como também da proliferação e transformação dos mesmos, podendo ocorrer também a inibição da atividade de enzimas celulares específicas (KANDUTSCH *et al.*, 1978; PENG *et al.*, 1979; IMAI *et al.*, 1980; ANSARI *et al.*, 1982; ADDIS, 1986; KUBOW, 1990; KUMAR & SINGHAL, 1991; BÖSSINGER *et al.*, 1993).

Os óxidos de colesterol apresentam, possivelmente, um papel maior na formação de placas ateroscleróticas do que o próprio colesterol (PENG & TAYLOR, 1984; HUBBARD *et al.*, 1989; KUMAR & SINGHAL, 1991). Desta forma, a oxidação do colesterol é considerada um fator de risco para a saúde humana (NOVELLI *et al.*, 1998). Além disso, os óxidos de colesterol estão associados a vários efeitos biológicos como mutagenicidade, carcinogenicidade, citotoxicidade, alteração das propriedades das membranas celulares e inibição da atividade da enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA) redutase (SEVANI & PETERSON, 1986; HUBBARD *et al.*, 1989; KUBOW, 1990; GUARDIOLA *et al.*, 1996). BÖSSINGER *et al.* (1993) relataram que culturas de células musculares de aortas de coelhos apresentaram 25% de necrose dentro de 24 horas usando uma concentração mínima de 10 $\mu$ g/mL de meio de cultura para o 25-hidroxicoolesterol e para o colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol, uma concentração de 50 $\mu$ g/mL de meio de cultura para o 7 $\alpha$ -hidroxicoolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicoolesterol e 7-cetocolesterol e 100 $\mu$ g/mL de

meio de cultura para o 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol e colest-4,6-dieno-3-ona. Estes autores também observaram que a adição de 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, numa concentração de 33 $\mu$ g/mL de meio de cultura, em cultura de células tumorais de fígado de rato (células HTC) inibiu em até 50% o crescimento celular, enquanto que no controle o crescimento foi de 200 a 800%.

Os procedimentos de processamento de produtos cárneos podem levar à oxidação dos lipídios presentes na carne por várias maneiras. O tratamento térmico tem efeitos negativos na estrutura celular, pois provoca a desnaturação das proteínas, principalmente da globina, deixando o íon ferro<sup>+2</sup> mais susceptível à oxidação com liberação de oxigênio molecular da oximioglobina presente nos músculos, produzindo desta maneira as condições para a produção de peróxidos de hidrogênio. Fragmentando, picando e misturando a carne, desfaz-se a estrutura muscular da mesma, aumentando a superfície de exposição ao oxigênio e a outros catalisadores da oxidação, o que pode dar origem a radicais livres desencadeando as reações de oxidação do colesterol (NOVELLI *et al.*, 1998).

A formação dos produtos da oxidação do colesterol pode ser evitada ou reduzida com o uso de antioxidantes, em uma concentração apropriada, e também com o emprego de embalagens adequadas, proporcionando uma barreira física ao ar e à luz (TAI *et al.*, 1999).

Os ácidos graxos também apresentam importante papel no tecido biológico, pois como constituintes lipídicos das membranas celulares, influenciam diretamente em certas propriedades, tais como, integridade, fluidificação, permeabilidade e atividades de ligação enzima-membrana. De acordo com o tipo de ácido graxo consumido na dieta, importantes implicações para o coração humano podem ser geradas, principalmente no que se refere às concentrações de lipídios no plasma e ao risco de doenças cardiovasculares (EDER, 1995).

Os ácidos graxos saturados são considerados hipercolesterolêmicos, sendo os ácidos graxos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) os mais preocupantes. Os ácidos graxos saturados de cadeia curta (<C12) são metabolizados de maneira diferente dos ácidos graxos saturados de cadeia longa e são imediatamente consumidos antes de serem armazenados nos tecidos

(SINCLAIR, 1993). Dos ácidos graxos insaturados, merecem atenção os ácidos graxos *trans* oriundos do processamento e da hidrogenação dos óleos e gorduras, que são considerados mais prejudiciais que os saturados (LAMBERTSON, 1992). Os ácidos graxos poliinsaturados naturalmente *cis* são tidos como benéficos, pois reduzem a agregação plaquetária, reduzem os triacilglicerídios e, conseqüentemente, reduzem o risco de doenças cardiovasculares (KINSELA *et al.*, 1990).

Os produtos cárneos processados são bastante consumidos pela população em geral. De acordo com o DATAMARK (2001), o mercado brasileiro destes produtos teve um aumento de 49% durante a última década (1991 a 2000), sendo os produtos charque (22%), mortadela (28%), salame (36%), apresuntado (46%), presunto (51%), lingüiça (52%) e salsichas (60%) os que apresentaram maior aumento.

Sendo o colesterol predominante nos produtos de origem animal e considerando que o processamento e o armazenamento podem levar à formação de óxidos de colesterol, é importante que os produtos cárneos processados sejam investigados.

## OBJETIVOS

Diante dos fatos expostos, os objetivos deste trabalho foram:

- Otimizar e validar uma metodologia para produtos cárneos processados com determinação simultânea de óxidos de colesterol e colesterol, por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando detector por conjunto de diodos e detector por índice de refração, em série.
- Determinar os teores de colesterol, óxidos de colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados.
- Verificar a incidência de ácidos graxos *trans*.
- Avaliar possíveis alterações no teor de lipídios, colesterol, óxidos de colesterol e na composição de ácidos graxos com o preparo térmico e o armazenamento de produtos cárneos processados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDIS, P. B. Occurrence of lipid oxidation products in foods. **Food. Chem. Toxicol.**, **24**: 1021, 1986.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Dietary Guidelines for Healthy American Adults** (<http://www.americanheart.org/Heart-and-Stroke-A-Z-guide/dietg.html>), 2003.

ANDERSON, J. T.; GRANDE, F. & KEYS, A. Cholesterol-lowering diets. **J. Am. Diet. Assoc.**, **62**: 133, 1973.

ANSARI, G. A. S.; WALKER, R. D.; SMART, V. B. & SMITH, L. L. Further investigations of mutagenic cholesterol preparation. **Food Chem. Toxicol.**, **20**: 35, 1982.

BÖSSINGER, S.; LUF, W. & BRANDL, E. Oxysterols: Their occurrence and biological effects. **Int. Dairy J.**, **3**: 1-33, 1993.

DATAMARK. (2001). Market data meat products. Retrieved January 25, 2002 from the World Wide Web: <http://www.datamark.com.br>.

DIONISI, F.; GOLAY, P. A.; AESCHLIMANN, J. M. & FAY, L. B. Determination of cholesterol oxidation products in milk powders: Methods comparison and validation. **J. Agric. Food Chem.**, **46**: 2227, 1998.

EDER, K. Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. **J. Chrom.**, **671**: 113-131, 1995.

FINOCCHIARO, E. T. & RICHARDSON, T. Sterol oxides in foodstuffs: a review. **J. Food Prot.**, **46**: 917, 1983.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P. B.; RAFECAS, M. & BOATELLA, Biological effects of oxysterols: current status. **Food Chem. Toxicol.**, **34**: 193, 1996.

HUBBARD, R. W.; ONO, Y. & SANCHEZ, A. Atherogenic effect oxidized products of cholesterol. **Progr. Food Nutr. Sci.**, **13**: 17, 1989.

IMAI, H.; WERTHESSEN, N. T.; SUBRAMANYAM, V.; LEQUESNE, P. W.; SOLOWAY, A. H. & KANISAWA, M. Angiotoxicity of oxygenated sterol and possible precursors. **Science**, **207**: 651, 1980.

KANDUTSCH, A. A. & CHEN, H. W. Inhibition of cholesterol synthesis by oxygenated sterols. **Lipids**, **13**: 704, 1978.

KEYS, A. Coronary heart disease in seven countries. **Circulation**, **41**: 1, 1970.

KINSELLA, J. E.; LOKESH, B. & STONE, R. A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. **Am. J. Clin. Nutr.**, **52**: 1, 1990.

KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends Food Sci. Technol.**, **1**: 67, 1990.

KUMAR, N. & SINGHAL, O. P. Cholesterol oxides and atherosclerosis: a review. **J. Sci. Food Agric.**, **55**: 497, 1991.

LAMBERTSON, G. *Trans* fatty acids topic for Lipidforum. **Am. Oil Chem. Soc.**, **3**: 196, 1992.

McNAMARA, D. J. Coronary heart disease. In: **Present knowledge in Nutrition** (Brown, M. L. Ed.), 349, 1990.

NOVELLI, E.; ZANARDI, E.; GHIRETTI, G. P.; CAMPANINI, G.; DAZZI, G.; MADARENA, G. & CHIZZOLINI, R. Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame milano and mortadella. **Meat Sci.**, **48**: 29, 1998.

PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D. & GERMAN, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **J. Food Sci.**, **60 (6)**: 1159, 1995.

PENG, S. K. & TAYLOR, C. B. Cholesterol autoxidation, health and arteriosclerosis. A review on situations in developed countries. **Nutr. Diet.**, **44**: 117, 1984.

PENG, S. K.; THAM, P.; TAYLOR, C. B. & MIKKELSON, B. Cytotoxicity of derivatives of cholesterol on cultured aortic smooth muscle cells and their effect on cholesterol bio-synthesis. **Am. J. Clin. Nutr.**, **32**: 1033, 1979.

REISER, R. Oversimplification of diet: coronary heart disease relationships and exaggerated diet recommendations. **Am. J. Clin. Nutr.**, **31**: 865, 1978.

SANDER, B. D.; ADDIS, P. B.; PARK, S. W. & SMITH, D. E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. **J. Food Prot.**, **52**: 109, 1989.

SEVANIAN, A. & PETERSON, A. R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. **Food Chem. Toxicol.**, **24**: 1103, 1986.

SINCLAIR, A. J. Dietary fat and cardiovascular disease: the significance of recent developments for the food industry. **Food Australia**, **45**: 226, 1993.

SMITH, L. L. Cholesterol Autoxidation. **Chem. Physis. Lipids**, **44**: 87, 1987.



TAI, C. Y.; CHEN, Y. C. & CHEN, B. H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: An overview (Part I). **J. Food Drug Anal.**, **7 (4)**: 243, 1999.

## **CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA PRODUTOS CÁRNEOS: PROCESSAMENTO E TEORES DE COLESTEROL, ÓXIDOS DE COLESTEROL E ÁCIDOS GRAXOS**

## **RESUMO**

A relação entre dieta e saúde está amplamente difundida e os consumidores, cada vez mais, levam em consideração a qualidade dos produtos quando fazem sua opção de compra. Produtos processados de carne como lingüiça, salsicha, mortadela, presunto e salame são muito apreciados pela população, mas, em geral, são considerados alimentos que apresentam altos teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos saturados. O processamento dos produtos cárneos pode ocasionar a oxidação do colesterol levando a formação de vários compostos, os quais estão associados a formação de placas ateroscleróticas e a vários efeitos biológicos indesejáveis. Esta revisão integra dados sobre o processamento dos produtos cárneos, a oxidação do colesterol e teores de colesterol, óxidos de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em produtos cárneos processados.

## **SUMMARY**

The connection between diet and health has been widely divulged such that consumers are taking product quality into consideration more and more before making a purchase. Processed meat products such as sausage, frankfurters, mortadela, ham and salame are highly appreciated by the population, but are generally considered as foods showing high cholesterol, total lipid and saturated fatty acid contents. The processing of meat products can result in oxidation of the cholesterol leading to the formation of various compounds associated with the formation of arteriosclerotic plaque and to various undesirable biological effects. This survey integrates data on the processing of meat products with those of cholesterol oxidation and the levels of cholesterol, cholesterol oxides, total lipids and fatty acids in processed meat products.

## 1 – INTRODUÇÃO

O colesterol está presente em todas as membranas celulares, apresentando funções importantes no organismo animal, pois é a chave intermediária na síntese de ácidos biliares, hormônios sexuais masculinos e femininos, hormônios adrenocorticais e participa da síntese da vitamina D<sub>3</sub>. Porém, está relacionado com aterosclerose e doenças cardiovasculares (KEYS, 1970; ANDERSON *et al.*, 1973; REISER, 1978), que são a principal causa de morte natural no Brasil e em muitos outros países. A hipercolesterolemia crônica é o primeiro e o mais importante fator de risco para a aterosclerose.

Há uma relação direta entre o colesterol e gordura saturada, provenientes da dieta, com o nível do colesterol sangüíneo e, conseqüentemente, o desenvolvimento de aterosclerose. Vários estudos mostram que a aterosclerose e as doenças coronarianas em pessoas com uma dieta rica em gordura saturada é muito acentuada (KWITEROVICH, 1997). Os ácidos graxos *trans* são mais preocupantes que os saturados porque além de aumentarem o nível de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol), diminuem o nível de lipoproteínas de alta densidade (HDL-colesterol) (LAMBERTSON, 1992).

O colesterol é instável e passível de sofrer oxidação quando exposto a várias condições como, temperaturas elevadas, ar, iniciadores de radicais livres, luz ou à combinação destes fatores. A autooxidação do colesterol é um processo de reações em cadeia, baseado na formação de radicais livres, idêntica à autooxidação dos lipídios insaturados (SMITH, 1987).

Os hidroperóxidos formados durante a oxidação lipídica dos ácidos graxos podem ser necessários para a iniciação da oxidação do colesterol. O alto teor de ácidos graxos poliinsaturados presente nos alimentos pode causar a oxidação de diferentes espécies de radicais livres dentro e fora das células. A oxidação lipídica é iniciada na superfície da membrana intracelular. A oxidação do colesterol em alimentos e sistemas biológicos pode ser intermolecular ou intramolecular. Em sistemas intermoleculares, o hidrogênio é extraído do colesterol por radicais peróxidos ou óxidos dos ácidos graxos poliinsaturados (fosfolipídios) vizinhos na

membrana celular. Em sistemas intramoleculares, a oxidação dos ácidos graxos ataca a porção colesteril das moléculas de éster de colesterol (SMITH, 1987).

Os produtos da oxidação do colesterol possuem estruturas semelhantes ao colesterol, com grupos funcionais como hidroxilas, cetona e epóxido adicionados no núcleo esterol e/ou na cadeia lateral da molécula. Estes compostos podem entrar na circulação sanguínea como contaminantes de alimentos contendo colesterol ou como resultado da oxidação de lipoproteínas ou ainda como catabolismo intracelular (MOREL & CHEN, 1996). Os óxidos de colesterol mais freqüentemente encontrados em alimentos são: 25-hidroxicolesterol, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol e colest-4,6-dieno-3-ona (FINOCCHIARO & RICHARDSON, 1983).

Os possíveis caminhos da formação dos principais óxidos de colesterol encontrados nos alimentos, por autooxidação do colesterol, podem ser observados na Figura 1 (TAI *et al.*, 1999).

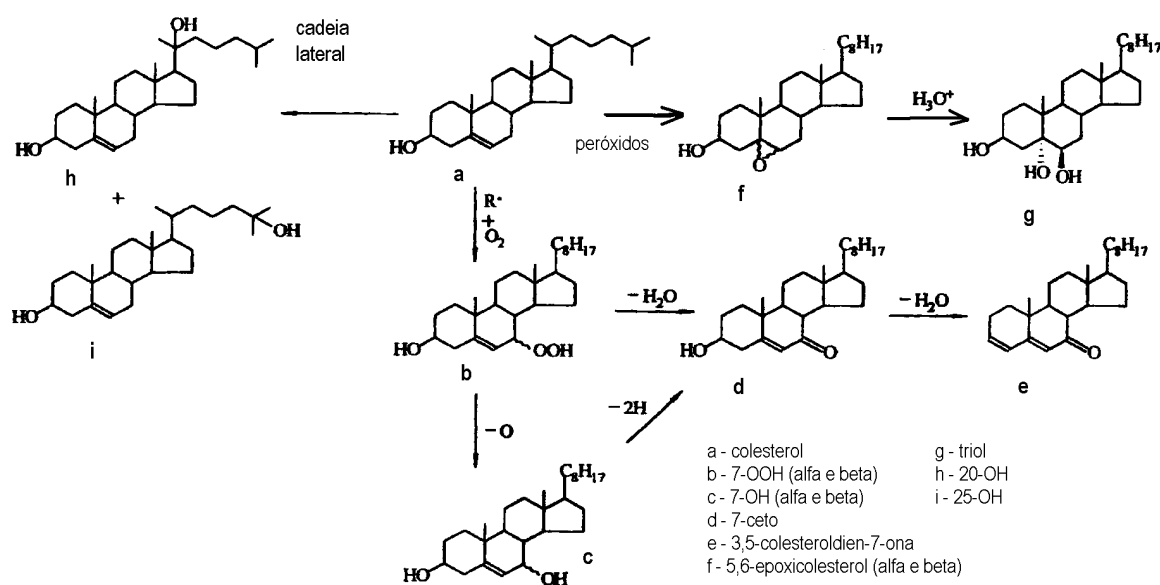


Figura 1. Formação dos principais óxidos de colesterol encontrados nos alimentos por autooxidação do colesterol.

A formação dos óxidos de colesterol nos alimentos é muito preocupante devido às implicações à saúde. Vários estudos realizados com 25-hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol e colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol em animais experimentais como coelhos, macacos e ratos e estudos “in vitro” com células endoteliais humanas e de coelhos demonstraram os efeitos citotóxicos destes óxidos de colesterol (HUBBARD *et al.*, 1989). Estudos utilizando 12 óxidos de colesterol em culturas de células musculares de aortas de coelhos brancos revelaram que o 25-hidroxicolesterol e o colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol, dentro de 24 horas, provocaram necroses em 25% das células, usando uma concentração mínima de 10 $\mu$ g/mL de meio de cultura (BÖSSINGER *et al.*, 1993).

Os produtos da oxidação do colesterol apresentam, possivelmente, um papel maior no desenvolvimento de placas ateroscleróticas do que o próprio colesterol (PENG & TAYLOR, 1984; HUBBARD *et al.*, 1989; KUMAR & SINGHAL, 1991). Alteram as propriedades das membranas celulares como viscosidade, provocando distúrbios na interação entre o colesterol e os fosfolipídios das membranas, afetando as funções básicas das mesmas, como transporte de nutrientes, atividade das enzimas da membrana e equilíbrio osmótico. Os óxidos de colesterol também inibem a atividade da enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA) redutase (PENG & MORIN, 1987; HUBBARD *et al.*, 1989; BÖSSINGER *et al.*, 1993; GUARDIOLA *et al.*, 1996).

A modificação oxidativa da LDL é uma hipótese da causa de aterosclerose (DZELETOVIC *et al.*, 1995). Recentes pesquisas em doenças cardiovasculares identificaram vários derivados oxigenados do colesterol em LDL oxidada em lesões arteriais (BROWN *et al.*, 1996; BROWN & JESSUP, 1999). Os óxidos de colesterol contribuem para a formação de lesões arteriais “in vivo”, por aumentarem a permeabilidade vascular à albumina e a outras macromoléculas, estimulando a agregação de plaquetas por alterações no equilíbrio das prostaglandinas e alterando a composição lipídica da LDL (GUARDIOLA, *et al.*, 1996; RONG, *et al.*, 1998). Estes compostos também inibem a expressão dos receptores de LDL (PENG *et al.*, 1996) e reprimem o relaxamento do endotélio arterial (DECKERT *et al.*, 1997).

Estudos têm demonstrado que os óxidos de colesterol presentes no plasma podem elevar diretamente a peroxidação de lipoproteínas. De acordo com HUGHES *et al.* (1994) o 7-cetocolesterol e o 7 $\beta$ -hidroxicolesterol foram detectados em LDL após a oxidação das mesmas “in vitro” na presença de íons cobre. CHISOLM *et al.* (1994) identificaram 7 $\beta$ -hidroxicolesterol como responsável pela oxidação de LDL e demonstraram a presença de lesões ateroscleróticas humanas. Quantidades significantes de óxidos de colesterol foram identificados em tecidos humanos das aortas, plasma e fígado de indivíduos hipercolesterolêmicos e ateroscleróticos (BJORKHEM *et al.*, 1981; JAVITT *et al.*, 1981; SPENCER *et al.*, 1985; KUMAR & SINGHAL, 1991).

Os óxidos de colesterol também apresentam efeitos mutagênicos e carcinogênicos. Uma correlação positiva entre a formação de 5,6-epoxicolesterol e a incidência de câncer foi evidenciada em experimentos onde observou-se o desenvolvimento de câncer de ovário em ratas e de pele em ratos (BLACK & DOUGLAS, 1972). Estudos “in vitro” também mostraram que o 5,6-epoxicolesterol apresenta efeito mutagênico (SEVANI & PETERSON, 1984). Em estudos epidemiológicos, pacientes com um aumento de colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol no trato gastrointestinal, apresentaram incidência de câncer de colon (SEVANI & PETERSON, 1986).

Os ácidos graxos também apresentam importante papel no tecido biológico, como constituintes lipídicos das membranas celulares, influenciam diretamente em certas propriedades, tais como, integridade, fluidez, permeabilidade e atividades de ligação enzima-membrana. No entanto, de acordo com o tipo de ácido graxo consumido na dieta, importantes implicações para o coração humano podem ser geradas, aumentando o risco de doenças cardiovasculares (EDER, 1995).

Dietas contendo alto teor de colesterol, ácidos graxos saturados e ácidos graxos *trans* são consideradas hipercolesterolêmicas e estão associadas com o desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares (ROBERTS, 1992). Os ácidos graxos saturados de cadeia longa podem afetar os níveis de lipídios plasmáticos de maneiras diferentes, os ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) são considerados os mais preocupantes e

hipercolesterolêmicos. Segundo HAYES *et al.* (1991), desses três ácidos graxos mencionados, o C14:0 é o mais hipercolesterolêmico e o C16:0 é o menos. O ácido esteárico (C18:0) tem efeito neutro no nível de colesterol sangüíneo, uma vez que é rapidamente convertido em ácido oléico (C18:1 $\omega$ 9), um ácido graxo monoinsaturado considerado hipocolesterolêmico. Os ácidos graxos saturados de cadeia curta (<C12) são metabolizados de maneira diferente dos ácidos graxos saturados de cadeia longa e são imediatamente consumidos antes de serem armazenados nos tecidos. A redução de ácidos graxos saturados de cadeia longa na dieta é desejável porque estes ácidos elevam a concentração de colesterol no soro sangüíneo e interferem com os receptores de LDL no fígado (SINCLAIR, 1993).

Os ácidos graxos presentes nos alimentos podem ser totalmente saturados ou conter duplas ligações em número variável de 1 a 6. Os ácidos graxos insaturados, portanto, compreendem tanto os ácidos graxos monoinsaturados quanto os poliinsaturados, que por sua vez, são formados por duas famílias de ácidos graxos:  $\omega$ 3 e  $\omega$ 6. A distinção entre eles é baseada na localização da primeira dupla ligação, contando a partir do último grupo metil da molécula de ácido graxo. Os ácidos graxos monoinsaturados são representados pelo ácido oléico (C18:1 $\omega$ 9), que pode ser sintetizado por todos os mamíferos, incluindo humanos. Ácidos graxos  $\omega$ 3 e  $\omega$ 6 são considerados essenciais, porque os humanos, assim como todos os mamíferos, não podem sintetizá-los e têm que retirá-los de sua dieta. O ácido graxo linoléico (C18:2 $\omega$ 6) representa os ácidos graxos  $\omega$ 6 e o ácido linolênico (C18:3 $\omega$ 3) os ácidos graxos  $\omega$ 3 (CHRISTIE, 1988).

O ácido linoléico, em humanos, pode ser convertido para ácido araquidônico (AA = C20:4 $\omega$ 6) e o ácido linolênico, para ácido eicosapentaenóico (EPA = C20:5 $\omega$ 3) e ácido docosahexaenóico (DHA = C22:6 $\omega$ 3), através de enzimas  $\Delta$ 6,  $\Delta$ 5 e  $\Delta$ 4-desaturases e alongamento de cadeia. Há evidências de que a  $\Delta$ 6-desaturase decresce com a idade, e estudos afirmam que prematuros, hipertensos e diabéticos têm limitações na conversão de ácido linolênico para EPA e DHA (DE GOMES & BRENNER, 1975; CARLSON *et al.*, 1986).



Numerosos estudos em animais, investigações epidemiológicas e triagens clínicas têm mostrado que os ácidos graxos poliinsaturados  $\omega 3$  são importantes para as funções biológicas normais, além de regular o metabolismo das prostaglandinas e reduzir o nível de triacilgliceróis (GREENE & SELIVONCHICK, 1987; WEAVER & HOLOB, 1988; SIMOPOULOS, 1991).

Os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, como o araquidônico e o eicosapentaenóico, localizados nas membranas celulares, são precursores de diferentes eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanas e leucotrienos) que atuam como mensageiros da célula e reguladores metabólicos, cujas funções específicas são particularmente de grande interesse no estudo de doenças cardiovasculares (METCALFE *et al.*, 1966). Além deste fator, os benefícios destes ácidos graxos estão associados à manutenção da integridade da membrana celular e sua capacidade em diminuir a quantidade de lipídios séricos (EDER, 1995). OKUYAMA *et al.* (1997) associaram a redução da produção de fatores bioquímicos de risco ao câncer à suplementação alimentar com EPA e DHA, que diminui os níveis de prostaglandinas do grupo  $E_2$ .

Deve-se destacar que as duplas ligações dos ácidos graxos apresentam a estrutura conformacional *cis*, isto é, os radicais em relação às duplas ligações estão do mesmo lado. No entanto, quando os ácidos graxos *cis* ou os triacilgliceróis, que os contêm, são submetidos a algum processo enzimático, oxidativo ou de hidrogenação, ocorre a formação de isômeros geométricos em que os radicais relacionados às duplas ligações mudam de posição, ocorrendo a formação dos ácidos graxos *trans*.

Os ácidos graxos *trans* praticamente não são encontrados em óleos e gorduras de origem vegetal não refinados, podendo ser formados em reações químicas, como a oxidação que ocorre durante os processos de extração, refino e estocagem e a hidrogenação industrial de óleos vegetais ou de pescados. No entanto, na gordura das carnes e produtos lácteos de animais ruminantes, os ácidos graxos isômeros *trans* são componentes naturais, sendo formados pela biohidrogenação através de sistemas enzimáticos (isomerases e hidrogenases) da flora microbiota presente no rúmen de animais poligástricos, portanto, a carne

bovina e de cordeiro podem ser fontes de ácidos graxos *trans* na dieta (SMITH *et al.*, 1978).

Sendo os óleos vegetais parcialmente hidrogenados, margarinas e gordura hidrogenada usados nas formulações de muitos produtos alimentícios, os ácidos graxos *trans*, podem estar presentes em uma grande variedade de alimentos, como os produtos cárneos processados.

## 2 – PROCESSAMENTO DOS PRODUTOS CÁRNEOS

O processamento ou a industrialização consiste na transformação das carnes em produtos cárneos. São vários os produtos cárneos produzidos e para cada um deles tem-se técnicas de processamento diferentes, as quais seguem descritas de acordo com TERRA (1998).

**2.1 – Hambúrguer e Almôndegas:** são aglomerados de carne picada e moída, misturados com os ingredientes (gordura hidrogenada, proteína vegetal, sal, condimentos naturais, glutamato monossódico e eritorbato de sódio) que sofrem uma prensagem e uma subsequente moldagem, sendo depois congelados e embalados. O produto deve ser conservado congelado ( $-12^{\circ}\text{C}$  a  $-18^{\circ}\text{C}$ ).

**2.2 – Salsicha:** A carne é moída e misturada com água/gelo. Essa mistura deve ser bem feita, não somente para a completa incorporação de todos os ingredientes (proteína vegetal, amido, sal, condimentos naturais, glutamato monossódico, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio) como, principalmente, para extrair as proteínas miofibrilares que irão reter a água dentro da massa cárnea. Concluída a mistura, a massa é embutida em tripa celulósica, cozida e resfriada. Após o resfriamento retira-se as tripas sintéticas e as salsichas são embaladas nos sacos plásticos a vácuo e conservadas resfriadas até  $+8^{\circ}\text{C}$ .

**2.3 – Mortadela:** A mortadela é o produto constituído de carne bovina, suína e toucinho picados e triturados ou de carne de ave e carne mecanicamente separada de ave, adicionado de amido, proteína vegetal, glicose, sal, condimentos e aromas naturais, glutamato monossódico, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio. Após a mistura de todos os ingredientes a mortadela é embutida em bexiga natural ou artificial, cozida em tanque ou estufa, iniciando-se com 60<sup>0</sup>C e terminando com 80<sup>0</sup>C. O centro do produto deve atingir a temperatura de 73<sup>0</sup>C. Após o cozimento a mortadela é resfriada e embalada, e conservada em temperatura de refrigeração (até +8<sup>0</sup>C).

**2.4 – Salame:** é o produto constituído da mistura de carne bovina, carne suína e toucinho picados, adicionados de ingredientes, tais como, leite em pó, sal, condimentos e especiarias, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio. Mistura-se tudo muito bem para também extrair as proteínas miofibrilares que responderão pela união dos fragmentos de carne no salame. A cultura *starter* (pesada na quantidade indicada na embalagem) após ter sido misturada com 200ml de água não clorada (repouso de 30 minutos para “acordar” a cultura *starter*) é misturada cuidadosamente. Concluída a mistura, a massa é embutida em tripas e em seguida submetido à defumação, secagem e embalagem. O produto é conservado em local seco, fresco e arejado.

**2.5 – Lingüiça:** é um produto preparado com carne picada bovina, suína, ou mistura das duas e toucinho, ou de carne de ave (frango, chester, peru), adicionado de sal, proteína de soja, condimentos naturais, glutamato monossódico, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio. Após a mistura dos ingredientes é realizado o embutimento em tripas finas naturais, atada com cordão em pequenos gomos, embaladas e conservadas sob refrigeração (até +8<sup>0</sup>C).

**2.6 – Presunto cozido:** O pernil suíno é desossado em cortes secundários (coxão mole, patinho, lagarto, coxão duro e alcatra). As porções cárneas são injetadas de salmoura e a seguir são colocadas no tombador a vácuo. O processo de

tombamento é realizado no interior de uma câmara fria ( $4^{\circ}$  a  $6^{\circ}\text{C}$ ) durante o período de 12 a 15 horas. A seguir as mesmas são embaladas, enformadas e cozidas. Após o cozimento são resfriadas, desenformadas, embaladas e conservadas em temperatura de refrigeração (até  $+8^{\circ}\text{C}$ ).

**2.7 – Apresuntado:** A paleta suína é moída e incorporada a salmoura e os ingredientes (amido, proteína de soja, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio), mantendo em cura por 12 a 15 horas ( $4$  a  $6^{\circ}\text{C}$ ), depois é embutida, enformada e cozida. Após o cozimento as peças são desenformadas, embaladas e conservadas em temperatura de refrigeração (até  $+8^{\circ}\text{C}$ ).

**2.8 – Jerked beef:** O dianteiro bovino é preparado em mantas com aproximadamente 5 cm de espessura, procedendo a salga úmida, por tombamento, com adição de nitrato e nitrito de sódio e antioxidante. Retirada da salmoura, elabora-se pilhas de peças de carne entremeadas de sal grosso (salga seca). Após 24 horas, inicia-se os tombos, invertendo a posição das mantas nas pilhas. Após quatro tombos, as peças são lavadas para a retirada do excesso de sal da superfície e expostas ao sol. Após a secagem as peças são embaladas e conservadas em local seco e arejado.

### **3 – COLESTEROL E ÓXIDOS DE COLESTEROL EM PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS**

O colesterol é um componente importantíssimo das membranas celulares dos animais e tende a estar presente nas carnes em quantidades variáveis.

Vários são os fatores que influenciam o nível de colesterol nas carnes, como a espécie animal (bovino, suíno, ovino, aves, etc.), a raça, o sexo, a idade e a dieta.

Alguns trabalhos sobre colesterol em produtos cárneos processados foram encontrados na literatura.

NOVELLI *et al.* (1998) determinaram colesterol em quatorze amostras de salame tipo Milano e onze amostras de mortadela suína, variando de 34,29 a 119,01mg/100g de amostra no salame Milano e de 52,11 a 138,14mg/100g de amostra na mortadela suína.

KING *et al.* (1998) quantificaram o colesterol em produtos processados de carne de peru, sendo oito amostras de presunto, pastrame e carne moída (“bologna”), com os teores de colesterol variando de  $116 \pm 3$  no presunto a  $144 \pm 15$ mg/100g de amostra na “bologna”.

RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.* (1997) realizaram um estudo onde verificaram o efeito de diferentes métodos de cozimento (assado, microondas, microondas e assado, grelhado, cozido e frito) sobre o teor de colesterol em hambúrguer bovino. O teor de colesterol nas amostras de hambúrguer cruas foi de 83,4mg/hambúrguer e nas amostras cozidas este teor variou de 49,1 no hambúrguer cozido a 72,5mg/hambúrguer no hambúrguer frito.

LARKESON *et al.* (2000) determinaram teores de colesterol em amostras de almôndegas (50% de carne bovina + 50% de carne suína) e hambúrguers bovinos crus e pré-fritos. Nas amostras de almôndegas cruas e pré-fritas os teores de colesterol obtidos foram 38,9 e 32,7mg/100g de amostra, respectivamente, e encontraram teores de 46,1mg/100g nas amostras de hambúrguers crus e 28,6mg/100g de amostra nos hambúrguers pré-fritos.

PEREIRA *et al.* (2000) quantificaram colesterol em lingüiças tipo comum e em lingüiças de carne de frango, chester e peru. Encontraram teores maiores nas amostras de lingüiças tipo comum ( $50,9 \pm 12,63$ mg/100g de amostra) e menores nas amostras de lingüiças de frango ( $43,6 \pm 14,81$ mg/100g de amostra) e de chester ( $43,6 \pm 6,65$ mg/100g de amostra).

LERCKER & RODRIGUEZ-ESTRADA (2000) obtiveram teores de colesterol variando de 100 a 300mg/100g de amostra em dez amostras de salame.

Os óxidos de colesterol podem ser formados durante o processamento e o preparo do alimento quando exposto a temperaturas elevadas, ar, luz, radiação ou

à combinação destes fatores (SMITH, 1987; HUBBARD *et al.*, 1989). Geralmente, temperatura, pH, luz, oxigênio, atividade de água e a presença de ácidos graxos insaturados são os fatores que mais influenciam na formação dos óxidos de colesterol durante o processamento e o armazenamento dos alimentos (DIONISI *et al.*, 1998). Além disso, condições impróprias de armazenamento podem facilitar a formação dos produtos da oxidação do colesterol (PANIANGVAIT *et al.*, 1995).

Os procedimentos de processamento podem levar à oxidação dos lipídios presentes na carne e em seus produtos processados por várias maneiras. O tratamento térmico tem efeitos negativos na estrutura celular, pois provoca a desnaturação das proteínas, principalmente da globina, deixando o íon ferro<sup>+2</sup> mais susceptível à oxidação com liberação de oxigênio molecular da oximioglobina presente nos músculos, produzindo desta maneira as condições para a produção de peróxidos de hidrogênio. Fragmentando, picando e misturando a carne, desfaz-se a estrutura muscular da mesma, aumentando a superfície de exposição ao oxigênio e a outros catalisadores da oxidação, o que pode dar origem a radicais livres desencadeando as reações de oxidação do colesterol (NOVELLI *et al.*, 1998).

Vários óxidos de colesterol foram encontrados em produtos cárneos processados.

NOVELLI *et al.* (1998) encontraram 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 7-cetocolesterol e 25-hidroxicolesterol em amostras de salame tipo Milano e de mortadela suína. O 7 $\beta$ -hidroxicolesterol foi detectado em duas amostras de salame (13,46 e 15,82 $\mu$ g/g de amostra) e uma amostra de mortadela (6,41 $\mu$ g/g de amostra); o 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol foi encontrado em cinco amostras de salame (0,50 – 9,47 $\mu$ g/g de amostra) e esteve ausente em apenas uma amostra de mortadela (1,62 – 6,18 $\mu$ g/g de amostra); o 7-cetocolesterol foi determinado em sete amostras de salame (0,42 – 2,56 $\mu$ g/g de amostra) e cinco amostras de mortadela (0,57 – 18,69 $\mu$ g/g de amostra) e o 25-hidroxicolesterol não foi detectado nas amostras de mortadela, sendo encontrado em apenas três amostras de salame (0,74, 1,42 e 2,64 $\mu$ g/g de amostra).

SCHMARR *et al.* (1996) analisaram dois tipos de salame, os quais foram designados como salame (A) e salame (B) e encontraram 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol ( $2,21 \pm 0,42$  no salame A e  $0,38 \pm 0,08\mu\text{g/g}$  de amostra no salame B), 7 $\beta$ -hidroxicolesterol ( $0,88 \pm 0,07$  no salame A e  $0,36 \pm 0,13\mu\text{g/g}$  de amostra no salame B), 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol ( $0,34 \pm 0,03\mu\text{g/g}$  de amostra no salame A e não detectado no salame B), 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol ( $0,74 \pm 0,19\mu\text{g/g}$  de amostra no salame A e não detectado no salame B), 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol ( $0,50 \pm 0,04$  no salame A e  $0,35 \pm 0,04\mu\text{g/g}$  de amostra no salame B) e 7-cetocolesterol ( $1,09 \pm 0,01$  no salame A e  $0,57 \pm 0,01\mu\text{g/g}$  de amostra no salame B).

HIGLEY *et al.* (1986) detectaram 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol em salsicha cozida ( $1640\mu\text{g/g}$  de amostra) e hambúrguer cozido ( $72\mu\text{g/g}$  de amostra), 7 $\beta$ -hidroxicolesterol em hambúrguer cru ( $3,6\mu\text{g/g}$  de amostra), traços de 7-cetocolesterol em salsicha, hambúrguer cru e cozido, colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol em salsichas cozidas ( $1335\mu\text{g/g}$  de amostra), “bologna” de peru ( $86\mu\text{g/g}$  de amostra) e hambúrguer cru ( $1298\mu\text{g/g}$  de amostra), 5-colesten-3 $\beta$ -ol-22-one em salsicha cozida ( $1869\mu\text{g/g}$  de amostra), hambúrguer cru ( $210\mu\text{g/g}$  de amostra), bacon cozido ( $668\mu\text{g/g}$  de amostra) e carne salgada de porco ( $247\mu\text{g/g}$  de amostra).

RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.* (1997) determinaram 7-cetocolesterol em amostras de hambúrguer bovino, verificando o efeito de diferentes métodos de preparo térmico sobre a oxidação do colesterol. Embora o preparo térmico tenha diminuído o conteúdo de 7-cetocolesterol, em relação à amostra crua, o 7-cetocolesterol foi detectado em maior teor quando os hambúrguers foram preparados através da combinação microondas + assado (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do preparo térmico sobre o conteúdo de 7-cetocolesterol em hambúrguer bovino.

| Preparo térmico     | 7-cetocolesterol<br>( $\mu\text{g/g}$ de lipídios)* |
|---------------------|-----------------------------------------------------|
| Cru                 | 25,2 <sup>e</sup>                                   |
| Assado              | 18,0 <sup>b</sup>                                   |
| Microondas          | 19,6 <sup>c</sup>                                   |
| Microondas + assado | 22,0 <sup>d</sup>                                   |
| Grelhado            | 19,5 <sup>c</sup>                                   |
| Cozido              | 16,4 <sup>a</sup>                                   |
| Frito               | 18,6 <sup>b</sup>                                   |

\* Valores médios das triplicatas. Valores na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não apresentaram diferença significativa ( $P = 0,05$ ).

LARKESON *et al.* (2000) também encontraram óxidos de colesterol ( $7\alpha$ -hidroxicolesterol,  $7\beta$ -hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol,  $5,6\alpha$ -epoxicolesterol,  $5,6\beta$ -epoxicolesterol e colestano- $3\beta,5\alpha,6\beta$ -triol) em amostras de hambúrguer bovino e almôndegas (50% de carne bovina + 50% de carne suína) cruas e pré-fritas, com os teores aumentados quando foram fritas e estocadas no escuro a  $4^{\circ}\text{C}$  por uma e duas semanas. O maior aumento foi determinado nos hambúrguers pré-fritos (Tabela 2).

Tabela 2. Óxidos de colesterol totais ( $\mu\text{g/g}$  lipídios) em almôndegas (50% de carne bovina + 50% de carne suína) e hambúrguer bovino crus e fritos.

|             | Cruas      |            | Pré-fritas |            |
|-------------|------------|------------|------------|------------|
|             | Almôndegas | Hambúrguer | Almôndegas | Hambúrguer |
| Tempo zero  | 3,3        | 5,5        | 5,5        | 8,4        |
| Fritas      | 10,4       | 6,7        | 8,2        | 29,4       |
| 1 semana*   | 11,0       | 6,9        | 14,3       | 41,9       |
| 2 semanas** | 10,8       | 7,2        | 16,1       | 49,5       |

\* Amostras fritas e estocadas a  $4^{\circ}\text{C}$  por uma semana; \*\* amostras fritas e estocadas a  $4^{\circ}\text{C}$  por duas semanas.



TORRES *et al.* (1989) determinaram óxidos de colesterol em amostras de charque preparadas com sal refinado, sal grosso e sal refinado com adição de BHA/BHT após trinta dias de estocagem em temperatura ambiente. No charque preparado com sal refinado encontraram 7-cetocolesterol (5,54µg/g de amostra) e colestano-3β,5α,6β-triol (1,82µg/g de amostra), no charque preparado com sal grosso 7β-hidroxicolesterol (3,16µg/g de amostra), 7-cetocolesterol (5,12µg/g de amostra) e colestano-3β,5α,6β-triol (3,92µg/g de amostra), no charque preparado com sal refinado + BHA/BHT encontraram 7β-hidroxicolesterol (0,38µg/g de amostra), 7-cetocolesterol (0,88µg/g de amostra), 4β-hidroxicolesterol (0,78µg/g de amostra) e 5,6α-epoxicolesterol (0,96µg/g de amostra).

OSADA *et al.* (2000) detectaram 7β-hidroxicolesterol + 5,6β-epoxicolesterol, 5,6α-epoxicolesterol, colestano-3β,5α,6β-triol e 7-cetocolesterol em amostras de lingüiça, presunto cru e assado, salame e bacon. Os teores de 7β-hidroxicolesterol + 5,6β-epoxicolesterol variaram de  $1,11 \pm 0,29$  no bacon a  $4,74 \pm 1,75$ µg/g de amostra na lingüiça, o 5,6α-epoxicolesterol variou de  $0,80 \pm 0,26$  no presunto cru a  $3,83 \pm 0,64$ µg/g de amostra na lingüiça, o colestano-3β,5α,6β-triol variou de  $0,51 \pm 0,48$  no presunto cru a  $3,68 \pm 2,41$ µg/g de amostra na lingüiça e os teores de 7-cetocolesterol variaram de  $7,08 \pm 1,36$  no bacon a  $12,04 \pm 0,61$ µg/g de amostra no presunto assado.

SANDER *et al.* (1989) analisaram amostras de carnes liofilizadas, sendo sete amostras de carne de frango e bovina e duas amostras de carne de peru. Obtiveram 7α-hidroxicolesterol em duas amostras de carne de frango (4 e 8µg/g de amostra) e bovina (6 e 17µg/g de amostra) e não foi encontrado nas amostras de carne de peru; o 7β-hidroxicolesterol foi determinado em quatro amostras de carne de frango (3 – 6µg/g de amostra), duas de carne bovina (9 e 14µg/g de amostra) e uma de carne de peru (18µg/g de amostra); o 7-cetocolesterol não foi detectado em somente uma amostra de carne de frango (4 – 22µg/g de amostra) e de carne bovina (3 – 27µg/g de amostra) e esteve presente nas duas amostras de carne de peru (8 e 20µg/g de amostra); o 5,6α-epoxicolesterol esteve presente nas sete amostras de carne de frango (2 – 43µg/g de amostra) e nas duas

amostras de carne de peru (7 e 21µg/g de amostra), não foi encontrado em apenas uma amostra de carne bovina (3 – 21µg/g de amostra); o 5,6β-epoxicolesterol não foi detectado em apenas uma amostra de carne de frango (4 – 27µg/g de amostra) e bovina (1 – 9µg/g de amostra) e esteve presente nas duas amostras de carne de peru (6 e 8µg/g de amostra); o colestano-3β,5α,6β-triol foi encontrado em somente uma amostra de carne bovina (2µg/g de amostra) e o 25-hidroxicolesterol não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas.

LERCKER & RODRIGUEZ-ESTRADA (2000) determinaram 7-cetocolesterol em dez amostras de salame, variando de 0,7 a 4,5µg/g de amostra.

MOURA & TENUTA-FILHO (2002) obtiveram 7α-hidroxicolesterol, 7β-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol e 25-hidroxicolesterol em dois lotes de hambúrguers de frango e bovino congelados, irradiados e estocados sob atmosfera de oxigênio e sob vácuo (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Colesterol e óxidos de colesterol em hambúrguer de frango congelado.

|   |          | Óxidos de colesterol (µg/g de amostra) |           |            |           |
|---|----------|----------------------------------------|-----------|------------|-----------|
|   | Oxigênio | 7α-OH                                  | 7β-OH     | 7-Ceto     | 25-OH     |
| 1 | ONI      | 7,8 ± 0,4                              | 6,3 ± 1,6 | 11,3 ± 0,7 | 4,3 ± 0,5 |
|   | O3       | 7,3 ± 0,3                              | 6,5 ± 0,4 | 9,5 ± 1,4  | 4,8 ± 1,1 |
| 2 | ONI      | 7,6 ± 0,5                              | 5,8 ± 0,3 | 13,3 ± 0,8 | 3,9 ± 0,4 |
|   | O3       | 7,2 ± 0,2                              | 5,6 ± 0,2 | 15,1 ± 2,7 | 3,7 ± 0,6 |
|   | Vácuo    | 7α-OH                                  | 7β-OH     | 7-Ceto     | 25-OH     |
| 1 | VNI      | 7,1 ± 0,1                              | 6,6 ± 0,8 | 5,5 ± 0,1  | 3,8 ± 0,5 |
|   | V3       | 7,6 ± 0,4                              | 7,7 ± 1,2 | 11,2 ± 0,7 | 4,0 ± 0,4 |
| 2 | VNI      | 7,2 ± 0,1                              | 5,4 ± 0,2 | 5,8 ± 0,5  | 3,9 ± 0,4 |
|   | V3       | 7,4 ± 0,4                              | 5,3 ± 0,1 | 14,7 ± 0,5 | 3,5 ± 0,5 |

ONI = atmosfera de oxigênio e não irradiado

O3 = atmosfera de oxigênio e irradiado com dose de 3KGy

VNI = atmosfera à vácuo e não irradiado

V3 = atmosfera à vácuo e irradiado com dose de 3KGy

Tabela 4. Colesterol e óxidos de colesterol em hambúrguer bovino congelado.

| Óxidos de colesterol (µg/g de amostra) |           |            |            |           |
|----------------------------------------|-----------|------------|------------|-----------|
| Oxigênio                               | 7α-OH     | 7β-OH      | 7-Ceto     | 25-OH     |
| <b>1 ONI</b>                           | 2,4 ± 0,3 | 11,2 ± 0,5 | 10,6 ± 0,1 | nd        |
| <b>O3,5</b>                            | 1,9 ± 0,4 | 11,7 ± 0   | 11,5 ± 0   | nd        |
| <b>O7</b>                              | 3,7 ± 0,6 | 12,6 ± 0,3 | 14,8 ± 0,6 | nd        |
| <b>2 ONI</b>                           | 1,4 ± 0,4 | 5,3 ± 0,3  | 1,4 ± 0,1  | 1,1 ± 0   |
| <b>O3,5</b>                            | 1,9 ± 0,1 | 10,0 ± 0,3 | 1,1 ± 0,1  | 1,9 ± 0,1 |
| <b>O7</b>                              | 4,4 ± 0,4 | 8,6 ± 1,6  | 0,7 ± 0,1  | 3,6 ± 2,1 |
| Vácuo                                  | 7α-OH     | 7β-OH      | 7-Ceto     | 25-OH     |
| <b>1 VNI</b>                           | 2,5 ± 0,1 | 12,5 ± 1,3 | 10,9 ± 0,1 | nd        |
| <b>V3,5</b>                            | 2,1 ± 0,3 | 11,8 ± 0,4 | 11,2 ± 0,7 | nd        |
| <b>V7</b>                              | 3,2 ± 0,1 | 11,9 ± 0,5 | 13,9 ± 0,1 | nd        |
| <b>2 VNI</b>                           | 2,5 ± 0,1 | 6,2 ± 0    | 0,7 ± 0,1  | 2,0 ± 0,3 |
| <b>V3,5</b>                            | 1,2 ± 0   | 3,7 ± 0    | 1,9 ± 0,5  | 3,6 ± 1,8 |
| <b>V7</b>                              | 3,2 ± 0   | tr         | 2,1 ± 0,8  | 5,2 ± 3,3 |

ONI = atmosfera de oxigênio e não irradiado

O3,5 = atmosfera de oxigênio e irradiado com dose de 3,5KGy

O7 = atmosfera de oxigênio e irradiado com dose de 7KGy

VNI = atmosfera à vácuo e não irradiado

V3,5 = atmosfera à vácuo e irradiado com dose de 3,5KGy

V7 = atmosfera à vácuo e irradiado com dose de 7KGy

tr = valores abaixo do limite de quantificação

nd = não detectado

Destes trabalhos citados, somente os trabalhos de NOVELLI *et al.* (1998), de SCHMARR *et al.* (1996) e de SANDER *et al.* (1989) relatam a realização da confirmação dos óxidos de colesterol através da espectrometria de massas. PARK & ADDIS (1985) não encontraram óxidos de colesterol nas amostras analisadas de fígado fresco, cérebro fresco, músculo bovino, frango frito, hambúrguer grelhado, jerked beef e lingüiça de fígado.

Os estudos sobre óxidos de colesterol em produtos cárneos processados são escassos na literatura e os resultados às vezes conflitantes. Em geral pode-se

dizer que: 1) entre os óxidos de colesterol formados, o 7-cetocolesterol é o de maior predominância; 2) os óxidos de colesterol considerados mais citotóxicos, 25-hidroxicolesterol e colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol, são encontrados apenas em algumas amostras; 3) diferentes óxidos de colesterol são encontrados, os quais divergem de autor para autor.

Desta forma, maiores estudos são necessários no sentido de elucidar melhor as condições que produzem estes óxidos de colesterol em alimentos.

#### **4 – LIPÍDIOS TOTAIS E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS**

Os lipídios podem sofrer transformações químicas tanto durante o seu armazenamento como no seu processamento. As transformações químicas mais importantes são as reações de rancidez, tanto a hidrolítica como a oxidativa. Estas transformações podem afetar profundamente as qualidades organolépticas dos alimentos, prejudicando a aceitação dos mesmos e a ingestão contínua e prolongada de produtos rancificados podem ser prejudiciais ao organismo humano.

A relação dieta e saúde está amplamente difundida e os clínicos gerais, cardiologistas e nutricionistas recomendam uma dieta equilibrada, ou seja, com baixo teor de lipídios totais e ácidos graxos saturados e maior taxa de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados.

Dentre os ácidos graxos insaturados, merecem atenção os ácidos graxos *trans* oriundos do processamento e da hidrogenação dos óleos e gorduras, que são considerados mais aterogênicos que os saturados. Os ácidos graxos poliinsaturados naturalmente *cis* são tidos como benéficos, pois reduzem a agregação plaquetária, reduzem os triacilglicerídeos e, conseqüentemente, reduzem o risco de doenças cardiovasculares (LAMBERTSON, 1992).

Alguns trabalhos contendo lipídios totais e composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados foram encontrados na literatura.

NOVELLI *et al.* (1998) determinaram lipídios totais em quatorze amostras de salame tipo Milano e onze amostras de mortadela suína. Os teores de lipídios variaram de 26,41 a 35,97g/100g no salame e de 22,74 a 34,49g/100g na mortadela.

LARKESON *et al.* (2000) determinaram lipídios e composição de ácidos graxos em amostras de almôndegas (50% de carne bovina + 50% de carne suína) e hambúrguers bovinos crus e pré-fritos (Tabela 5).

Tabela 5. Teores de lipídios totais e principais ácidos graxos em amostras de almôndegas (50% de carne bovina + 50% de carne suína) e hambúrguer bovino crus e fritos.

| Amostras | Lipídios | Ácidos graxos (% de área) |       |       |       |       |       |       |        |
|----------|----------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
|          | (%)      | C14:0                     | C16:0 | C16:1 | C18:0 | C18:1 | C18:2 | C18:3 | Outros |
| ALCR     | 6,6      | 2,4                       | 28,2  | 3,2   | 13,5  | 43,7  | 5,2   | 0,4   | 3,5    |
| ALFR     | 11,3     | 2,9                       | 30,2  | 3,4   | 12,5  | 42,7  | 4,6   | 0,3   | 3,4    |
| HACR     | 17,0     | 3,6                       | 28,4  | 4,8   | 13,3  | 40,5  | 1,0   | 0,2   | 8,2    |
| HAFR     | 12,6     | 2,6                       | 28,8  | 2,9   | 13,3  | 42,1  | 6,7   | 0,5   | 3,4    |

ALCR = almôndega crua; ALFR = almôndega frita; HACR = hambúrguer cru; HAFR = hambúrguer frito.

RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.* (1997) realizaram um estudo verificando o efeito de diferentes métodos de cozimento sobre os teores de lipídios e alterações na composição de ácidos graxos em amostras de hambúrguer bovino (Tabela 6).

Tabela 6. Efeito do tratamento térmico sobre os teores de lipídios e a composição de ácidos graxos em hambúrguer bovino.

| Tratamento             | Lipídios (%) <sup>*</sup> | Ácidos graxos totais <sup>*</sup> |                   |                   |
|------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|
|                        |                           | AGS (%)                           | AGM (%)           | AGP (%)           |
| Cru                    | 13,8 <sup>d</sup>         | 49,0 <sup>a</sup>                 | 47,9 <sup>a</sup> | 3,2 <sup>a</sup>  |
| Assado                 | 10,8 <sup>a</sup>         | 48,7 <sup>a</sup>                 | 47,8 <sup>a</sup> | 3,5 <sup>b</sup>  |
| Microondas             | 11,1 <sup>b</sup>         | 48,8 <sup>a</sup>                 | 47,8 <sup>a</sup> | 3,5 <sup>bc</sup> |
| Microondas +<br>assado | 11,5 <sup>b</sup>         | 48,4 <sup>a</sup>                 | 48,1 <sup>a</sup> | 3,6 <sup>c</sup>  |
| Grelhado               | 10,6 <sup>a</sup>         | 48,4 <sup>a</sup>                 | 47,9 <sup>a</sup> | 3,6 <sup>c</sup>  |
| Cozido                 | 10,6 <sup>a</sup>         | 48,5 <sup>a</sup>                 | 47,9 <sup>a</sup> | 3,6 <sup>bc</sup> |
| Frito                  | 12,2 <sup>c</sup>         | 49,0 <sup>a</sup>                 | 47,5 <sup>a</sup> | 3,5 <sup>b</sup>  |

\* Média dos valores das triplicatas. AGS = ácidos graxos saturados; AGM = ácidos graxos monoinsaturados; AGP = ácidos graxos poliinsaturados. Valores na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não apresentaram diferença significativa (P = 0,05).

PEREIRA *et al.* (2000) realizaram um trabalho com amostras de lingüiças tipo comum, lingüiças de carne de frango, chester e peru, onde verificaram os teores de lipídios totais e a composição de ácidos graxos. Os teores de lipídios totais foram menores nas amostras de lingüiça de carne de peru ( $4,06 \pm 0,07\text{g}/100\text{g}$ ) e maiores nas amostras de lingüiça tipo comum ( $17,0 \pm 4,8\text{g}/100\text{g}$ ). Os principais ácidos graxos encontrados, em ordem decrescente, foram: C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:0 e C16:1 $\omega$ 7.

LERCKER & RODRIGUEZ-ESTRADA (2000) determinaram lipídios totais em dez amostras de salame, com teores variando de 19,3 a 24,9g/100g.

TORRES *et al.* (1989) determinaram a composição de ácidos graxos em amostras de charque preparadas com sal refinado, sal grosso e sal refinado com adição de BHA/BHT, durante sessenta dias de estocagem. Encontraram, em ordem decrescente, os principais ácidos graxos C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:0, C14:0 e C18:2 $\omega$ 6.

Como os produtos cárneos processados são altamente consumidos e são fontes importantes de lipídios e ácidos graxos saturados, maiores estudos são necessários para verificar a presença de tais compostos e suas respectivas implicações nutricionais à saúde.

## 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J. T.; GRANDE, F. & KEYS, A. Cholesterol-lowering diets. **J. Am. Diet. Assoc.**, **62**: 133-141, 1973.

BJORKHEM, I.; OFTEBRO, H.; SKREDE, S. & PEDERSEN, J. I. Assay of intermediates in bile acid synthesis using isotope dilution-mass spectrometry: hepatic levels in the normal state and in cerebrotendinous xanthomatosis. **J. Lipid Res.**, **22**: 191-198, 1981.

BLACK, H. S. & DOUGLAS, D. R. A model system for the evaluation of the role of cholesterol oxide in ultraviolet carcinogenesis. **Cancer Res.**, **32**: 2630-2632, 1972.

BÖSSINGUER, S.; LUF, W. & BRANDL, E. Oxysterols: Their occurrence and biological effects. **Int. Dairy J.**, **3**: 1-33, 1993.

BROWN, A. J.; DEAN, R. T. & JESSUP, W. Free and esterified oxysterol: formation during copper-oxidation of low density lipoprotein and uptake by macrophages. **Atherosclerosis**, **33**: 320-331, 1996.

BROWN, A. J. & JESSUP, W. Oxysterols and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, **142**: 1- 19, 1999.

CARLSON, S. E.; RHODES, P. G. & FERGUSON, M. G. Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. **Am. J. Clin. Nutr.**, **44**: 798-804, 1986.

CHISOLM, G. M.; MA, G. P.; IRWIN, K. C.; MARTIN, L. L.; GUNDERSON, K. G.; LINBERG, L. F.; MOREL, D. W. & DiCORLETO, P. E. 7 $\beta$ -Hydroxycholesterol a component of human atherosclerotic lesions, is the primary cytotoxin of oxidized humn low density lipoprotein. **Atherosclerosis**, **91**: 11452-11465, 1994.

CHRISTIE, W. W. Equivalent chain-lengths of methyl esters derivatives of fatty acids on gas chromatography. **J. Chrom.**, **447**: 305-314, 1988.

DECKERT, V.; VIENS, L.; LIZARD, G.; ATHIAS, A.; LALLEMANT, C.; GAMBERT, P. & LAGROST, L. Inhibitors of arterial relaxation among components of human oxidized low-density lipoproteins. Cholesterol derivatives oxidized in position 7 are potent inhibitors of endothelium-dependent relaxation. **Circulation**, **95**: 723-731, 1997.

DE GOMES DUMM, I. N. T. & BRENNER, R. R. Oxidative desaturation of alpha-linolenic, linoleic, and stearic acids by human liver microsomes. **Lipids**, **10**: 315-317, 1975.

DIONISI, F.; GOLAY, P. A.; AESCHLIMANN, J. M. & FAY, L. B. Determination of cholesterol oxidation products in milk powders: Methods comparison and validation. **J. Agric. Food Chem.**, **46**: 2227-2239, 1998.

DZELETOVIC, S.; BREUER, O.; LUND, E. & DICZFALUSY, U. Determination of cholesterol oxidation products in human plasma by isotope dilution – mass spectrometry. **Anal. Biochem.**, **225**: 73-81, 1995.



EDER, K. Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. **J. Chrom., 671:** 113-131, 1995.

FINOCCHIARO, E. T. & RICHARDSON, T. Sterol oxides in foodstuffs: a review. **J. Food Prot., 46:** 917-929, 1983.

GREENE, D. H. S. & SELIVONCHICK, D. P. Lipid metabolism in fish. **Prog. Fish Res., 26:** 53-85, 1987.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P. B.; RAFECAS, M. & BOATELLA, Biological effects of oxysterols: current status. **Food Chem. Toxicol., 34:** 193-198, 1996.

HAYES, K. C.; PRONCZUK, A. LINDSEY, S. & DIERSEN-SCHADE, D. Dietary saturated fatty acids (12:0, 14:0, C16:0) differ in their impact on plasma cholesterol and lipoproteins in nonhuman primates. **Am. J. Clin. Nutr., 53:** 491-502, 1991.

HIGLEY, N. A.; TAYLOR, S. L.; HERIAN, A. M. & LEE, K. Cholesterol Oxides in Processed Meats. **Meat Sci., 16:** 174-181, 1986.

HUBBARD, R. W.; ONO, Y. & SANCHEZ, A. Atherogenic effect oxidized products of cholesterol. **Progr. Food Nutr. Sci., 13:** 17-44, 1989.

HUGHES, H.; MATHEWS, B.; LENZ, M. L. & GUYTON, J. R. Cytotoxicity of oxidized LDL to porcine smooth muscle cells is associated with the oxysterol 7-ketocholesterol and 7-hydroxycholesterol. **Arterioscler. Thromb., 14:** 1177-1191, 1994.

JAVITT, N. B.; KOK, E.; BURSTEIN, S.; COHEN, B. & KUTSCHER, J. 26-Hydroxycholesterol. Identification and quantitation in human serum. **J. Biol. Chem., 256:** 12644-12656, 1981.

KEYS, A. Coronary heart disease in seven countries. **Circulation**, **41**: 1-17, 1970.

KING, A. J.; PANIANGVAIT, P.; JONES, A. D. & GERMAN, J. B. Rapid method for quantification of cholesterol in turkey meat and products. **J. Food Sci.**, **63(3)**: 382-385, 1998.

KUMAR, N. & SINGHAL, O. P. Cholesterol oxides and atherosclerosis: a review. **J. Sci. Food Agric.**, **55**: 497-511, 1991.

KWITEROVICH, P. O. The effect of dietary fat, antioxidants, and pro-oxidants on blood lipids, lipoproteins, and atherosclerosis. **J. Am. Diet. Assoc.**, **97 (7)**: 31-43, 1997.

LAMBERTSON, G. *Trans* fatty acids topic for Lipidforum. **Am. Oil Chem. Soc.**, **3**: 196-207, 1992.

LARKESON, B.; DUTTA, P. C. & HANSSON, I. Effects of frying and storage on cholesterol oxidation in minced meat products. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **77**: 675-680, 2000.

LERCKER, G. & RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T. Cholesterol oxidation: presence of 7-ketocholesterol in different food products. **J. Food Comp. Anal.**, **13**: 625-631, 2000.

METCALFE, L. D.; SCHMITZ, A. A. & PELKA, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. **Anal. Chem.**, **38**: 514-515, 1966.

MOREL, D. W. & CHEN, I. L. Cellular bilchemistry of oxysterols derived from the diet or oxidation in vivo. **Nutr. Biochem.**, **7**: 495-506, 1996.

MOURA, A. F. P. & TENUTA-FILHO, A. Determinação de óxidos de colesterol em hambúrguers de frango e bovino irradiados. **Anais XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 110-113, 2002.

NOVELLI, E.; ZANARDI, E.; GHIRETTI, G. P.; CAMPANINI, G.; DAZZI, G.; MADARENA, G. & CHIZZOLINI, R. Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame milano and mortadella. **Meat Sci.**, **48**: 29-40, 1998.

OKUYAMA, H.; KOBAYASHI, T. & WATANABE, S. Dietary fatty acids the n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases. Excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan. **Prog. Lipid Res.**, **35(4)**: 409-457, 1997.

OSADA, K.; HOSHIMA, S.; NAKAMURA, S. & SUGANO, M. Cholesterol oxidation in meat products and its regulation by supplementation of sodium nitrite and apple polyphenol before processing. **J. Agric. Food Chem.**, **48**: 3823-3829, 2000.

PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D. & GERMAN, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **J. Food Sci.**, **60 (6)**: 1159-1174, 1995.

PARK, S. W. & ADDIS, P. B. HPLC determination of C7 oxidized cholesterol derivatives in foods. **J. Food Sci.**, **50**: 1437-1444, 1985.

PENG, S. K. & TAYLOR, C. B. Cholesterol autoxidation, health and arteriosclerosis. A review on situations in developed countries. **Nutr. Diet.**, **44**: 117-123, 1984.

PENG, S. K. & MORIN, R. G. Effects on membrane function by cholesterol oxidation derivatives in cultured aortic smooth muscle cells. **Nutr. Diet.**, **14**: 85-94, 1987.

PENG, S. K.; ZHANG, X.; CHAI, N. N.; WAN, Y. & MORIN, R. J. Inhibitory effect of cholesterol oxides on low density lipoprotein receptor gene expression. **Artery**, **22**: 61-79, 1996.

PEREIRA, N. R.; TARLEY, C. R. T.; MATSUSHITA, M. & SOUZA, N. E. Proximate composition and fatty acid profile in Brazilian poultry sausages. **J. Food Comp. Anal.**, **13**: 915-920, 2000.

REISER, R. Oversimplification of diet: coronary heart disease relationships and exaggerated diet recommendations. **Am. J. Clin. Nutr.**, **31**: 865-876, 1978.

ROBERTS, W. C. Atherosclerosis risk factors are there ten, or is there only one? **Atherosclerosis**, **79**: 1146-1148, 1992.

RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; BERTACCO, G. & LERCKER, G. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburguers. **Meat Sci.**, **45**: 365-375, 1997.

RONG, J. X.; RANGASWAMY, S.; SHEN, L.; DAVE, R.; CHANG, Y. H.; PETERSON, H.; HODIS, H.; CHISOLM, G. M. & SEVANIAN, A. Arterial injury by cholesterol oxidation products cause endothelial dysfunction and arterial wall cholesterol accumulation. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, **18**: 1885-1894, 1998.

SANDER, B. D.; ADDIS, P. B.; PARK, S. W. & SMITH, D. E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. **J. Food Prot.**, **52**: 109-114, 1989.

SCHMARR, H. G.; GROSS, H. B. & SHIBAMOTO, T. Analysis of polar cholesterol oxidation products: evaluation of a new method involving transesterification, solid phase extraction, and gas chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, **44**: 512-517, 1996.

SEVANIAN, A. & PETERSON, A. R. Cholesterol epoxide is a direct acting mutagen. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, **81**: 4198-4205, 1984.

SEVANIAN, A. & PETERSON, A. R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. **Food Chem. Toxicol.**, **24**: 1103-1109, 1986.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. **Am. J. Clin. Nutr.**, **54**: 438-463, 1991.

SINCLAIR, A. J. Dietary fat and cardiovascular disease: the significance of recent developments for the food industry. **Food Australia**, **45**: 226-231, 1993.

SMITH, L. L. Cholesterol Autoxidation. **Chem. Physis. Lipids**, **44**: 87-125, 1987.

SMITH, L. M.; DUNKLEY, W. L.; FRANKE, A. & DAIKING, T. Measurement of *trans* and other isomeric insaturated fatty acid in butter and margarine. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **55**: 257-261, 1978.

SPENCER, T. A.; GAYEN, A. K.; PHIRWA, S.; NELSON, J. A.; TAYLOR, F. R., KANDUTSCH, A. A. & ERICKSON, S. K. 24(S)-, 25-Epoxycholesterol. Evidence consistent with a role in the regulation of hepatic cholesterol-genesis. **J. Biol. Chem.**, **260**: 13391-13398, 1985.

TAI, C. Y.; CHEN, Y. C. & CHEN, B. H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: An overview (Part I). **J. Food Drug Anal.**, **7 (4)**: 243-258, 1999.

TERRA, N.N., 1998. Apontamentos de Tecnologia de Carnes. São Leopoldo, **Ed. UNISINOS**, 216p.

TORRES, E.; PEARSON, A. M.; GRAY, J. I. & KU, P. K. Lipid oxidation in charqui (salted and dried beef). **Food Chem.**, **32**: 257-268, 1989.

WEAVER, B. J. & HOLOB, B. J. Health effects and metabolism of dietary eicosapentaenoic acid. **Prog. Food Nutr. Sci.**, **12**: 111-150, 1988.

## **CAPÍTULO 2**

# **VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA, POR CLAE, DE COLESTEROL E ÓXIDOS DE COLESTEROL EM PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS**

## RESUMO

Alguns óxidos de colesterol de importância biológica como 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol e colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol não possuem características adequadas de absorção na luz ultravioleta (UV). No entanto, podem ser determinados pelo detector por índice de refração, embora seja menos sensível que o detector por UV. No presente trabalho foi validado um método para a determinação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados, por CLAE, utilizando detector por conjunto de diodos e detector por índice de refração, em série. Foram utilizadas amostras de produtos processados de carne de peru. O preparo das amostras foi realizado de acordo com SANDER *et al.* (1989), o qual apresenta as seguintes etapas: extração dos lipídios, saponificação a frio e extração da matéria insaponificável. As condições cromatográficas foram: coluna Nova Pak CN HP (300 x 3,9mm, 4 $\mu$ m); temperatura da coluna 32 $^{\circ}$ C; fase móvel de hexano/isopropanol (96+4) com vazão de 1,0mL/min, de acordo com BAGGIO *et al.* (2002). O método foi validado através da recuperação, repetibilidade, limite de detecção, limite de quantificação e comparação dos resultados obtidos pelos dois detectores utilizados. A identificação do colesterol e dos óxidos de colesterol foi feita por comparação do tempo de retenção do padrão com o da amostra, espectros de absorbância e co-cromatografia, e a confirmação por espectrometria de massas. Nas condições cromatográficas utilizadas, foram separados o colesterol e os seguintes óxidos de colesterol: colestano-4,6-dien-3-ona, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol e 7-cetocolésterol. Sendo identificados e confirmados nas amostras analisadas de produtos cárneos processados de peru o colesterol, o 7-cetocolésterol e o 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol. O colesterol e o 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol foram quantificados pelo detector por índice de refração e o 7-cetocolésterol pelo detector por conjunto de diodos.



---

## SUMMARY

Some cholesterol oxides of biological importance such as 5,6 $\alpha$ -epoxicholesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicholesterol and cholestan-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol do not possess the necessary characteristics for ultraviolet (UV) absorption. However they can be determined using a refractive index detector, although this is less sensitive than UV detector. This study validated a method for the simultaneous determination of cholesterol and cholesterol oxides by HPLC in processed meat products, using diode array and refractive index detectors. The samples were prepared according to SANDER *et al.* (1989), including the following steps: lipid extraction, cold saponification and extraction of the unsaponifiable matter. The following chromatographic conditions were used: HP Nova Pak CN column (300 x 3.9mm, 4 $\mu$ m); column temperature of 32°C; mobile phase of hexanol/isopropanol (96+4) with a flow rate of 1.0mL/min., according to BAGGIO *et al.* (2002). The method was validated according to recovery, repeatability, detection limits, quantification limits and comparison of the results obtained with the two detectors. Identification of cholesterol and the cholesterol oxides was by comparison of the retention times with those of the standard, absorption spectra and co-chromatography, and confirmation was by mass spectroscopy. Under the chromatographic conditions used, cholesterol, and the following cholesterol oxides were separated: cholesta-4,6-dien-3-one, 20 $\alpha$ -hydroxycholesterol, 25-hydroxycholesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxycholesterol, 5,6 $\beta$ -epoxycholesterol, 7 $\alpha$ -hydroxycholesterol, 7 $\beta$ -hydroxycholesterol. Only 7-cetocholesterol, and cholesterol, 7-cetocholesterol and 5,6 $\beta$ -epoxycholesterol were identified and confirmed in the samples from processed turkey meat products. Cholesterol and 5,6 $\beta$ -epoxycholesterol were quantified using the refraction index detector and 7-cetocholesterol by the diode array detector.

## 1 – INTRODUÇÃO

O colesterol é um lipídio presente na fração insaponificável, de origem animal, encontrado em todas as células vivas. Ele é necessário para a estrutura das membranas celulares, é precursor da síntese de ácidos biliares, da síntese da vitamina D<sub>3</sub> e de hormônios (estradiol, testosterona, progesterona, estrona, aldosterona, cortisol). Porém, está relacionado com ateroscleroses e doenças cardíacas coronarianas.

A oxidação dos lipídios presentes nos alimentos de origem animal é considerada um fator de risco para a saúde humana. O colesterol, sendo um lipídio insaturado, é susceptível à oxidação quando exposto ao ar, altas temperaturas, iniciadores de radicais livres, luz ou à combinação destes (SMITH, 1987). Os produtos da oxidação do colesterol são considerados agentes mais prejudiciais que o próprio colesterol na formação de placas ateroscleróticas, bem como mutagênicos, carcinogênicos e citotóxicos (GUARDIOLA *et al.*, 1996).

Os principais óxidos de colesterol encontrados em alimentos são: 25-hidroxicolesterol, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol e colestano-4,6-dien-3-ona (FINOCCHIARO & RICHARDSON, 1983).

A determinação de óxidos de colesterol em produtos alimentícios pode ser realizada através de várias metodologias, sendo as mais utilizadas a cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Discrepâncias nos resultados têm sido observadas, as quais podem ser atribuídas aos diferentes procedimentos utilizados. Em alimentos contendo baixos níveis de óxidos de colesterol, a quantificação dos mesmos torna-se um problema analítico difícil, uma vez que a extração e a separação destes compostos é freqüentemente dificultado pela presença de interferentes, como colesterol e outros esteróis, triacilglicerídeos e fosfolipídios (McCLUSKEY & DEVERY, 1993).

Os produtos da oxidação do colesterol foram primeiramente separados por cromatografia em camada delgada (CCD) (ANSARI & SMITH, 1979). Porém, TENG *et al.* (1973) obtiveram a separação dos hidroxicolesterois mas não dos

hidroperoxicolesteróis. Além disso, com esta técnica cromatográfica pode ocorrer maior exposição das amostras à oxidação devido à grande área de superfície e a menor velocidade de eluição dos compostos (CSALLANY *et al.*, 1989).

A CG, embora seja eficiente para separar alguns óxidos de colesterol, pode destruir termicamente o colesterol e os hidroperóxidos (FINOCCHIARO *et al.*, 1984; YAN & WHITE, 1990). Além dos procedimentos de saponificação do extrato lipídico e subsequente extração da fração insaponificável contendo os óxidos de colesterol, a cromatografia gasosa requer uma derivação adicional. Estas várias etapas analíticas podem levar à redução da recuperação e à formação de artefatos (CARERI *et al.*, 1998). A CG com espectrometria de massas (CG-MS) é também uma técnica eficaz para a confirmação dos óxidos de colesterol (PARK & ADDIS, 1987; OSADA *et al.*, 1993; ROSE-SALIN *et al.*, 1995).

A determinação simultânea dos óxidos de colesterol por CLAE não é uma tarefa fácil, considerando que a maioria deles têm estruturas semelhantes. A maior parte destes analitos não possuem grupos cromóforos adequados que permitem uma detecção fácil pelos métodos convencionais e na maior parte dos casos a quantidade destes compostos é pequena em relação a sensibilidade do detector (CARERI *et al.*, 1998). O uso do detector UV é limitado devido à absorção fraca e não específica na luz ultravioleta de alguns óxidos de colesterol de importância biológica como o 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol e o colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol (ANSARI & SMITH, 1979; CSALLANY *et al.*, 1989; SMITH, 1993), exigindo determinações mais complexas. O detector por índice de refração tem sido utilizado por alguns autores, embora possua menor sensibilidade que o detector por UV (CHEN *et al.*, 1994; NIELSEN *et al.*, 1995). A combinação da CLAE com espectrometria de massas (CLAE-MS) para a identificação e quantificação dos óxidos de colesterol, melhora as possibilidades analíticas, principalmente dos compostos termolábeis, e aumenta a sensibilidade (CARERI *et al.*, 1998).

A determinação dos óxidos de colesterol e do colesterol requer uma metodologia analítica branda para evitar a formação de artefatos, uma vez que o colesterol, sendo instável e susceptível à oxidação, pode levar à formação de

óxidos de colesterol durante a análise, devido a presença do ar, luz, solventes contendo peróxidos ou temperaturas elevadas (ROSE-SALIN *et al.*, 1995).

Considerando que a CLAE simplifica os procedimentos de quantificação e diminui o número de artefatos, o objetivo do presente trabalho foi otimizar e validar uma metodologia por CLAE para a determinação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados, utilizando dois sistemas de detecção em série: detector por conjunto de diodos e detector por índice de refração.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 – Material e Reagentes

Para a validação e otimização da metodologia, foram utilizadas amostras de produtos processados de carne de peru, sendo peito defumado, almôndegas, blanquete, hambúrguer, presunto, presunto defumado, roulé e salsicha. Para cada um destes produtos foram analisados quatro lotes com diferentes datas de validade, cada lote foi composto por três unidades. As amostras foram adquiridas em supermercados de Campinas e imediatamente analisadas. As amostras foram trituradas e homogeneizadas em multiprocessador até obtenção de uma massa homogênea. Subamostras de 50g foram tomadas para análises em duplicata.

O colesterol e os óxidos de colesterol: colest-4,6-dien-3-ona, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 6-cetocolesterol e 7 $\beta$ -hidroxicolesterol foram adquiridos da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). O 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol foi obtido da Steraloids Inc. (Wilton, EUA).

Todos os solventes usados para a extração e preparo da amostra foram grau analítico e para análise cromatográfica foram de grau cromatográfico, os quais foram filtrados em filtro Millipore (0,45 $\mu$ m) e degaseificados em ultra-som antes do uso.

## 2.2 - Métodos

A extração dos lipídios foi realizada de acordo com o método de FOLCH *et al.* (1957). Alíquotas do extrato lipídico foram secas em evaporador rotatório, saponificadas a frio e a matéria insaponificável foi extraída com éter etílico (SANDER *et al.*, 1989). O método para extração do colesterol e dos óxidos de colesterol está sumariamente descrito na Figura 1.

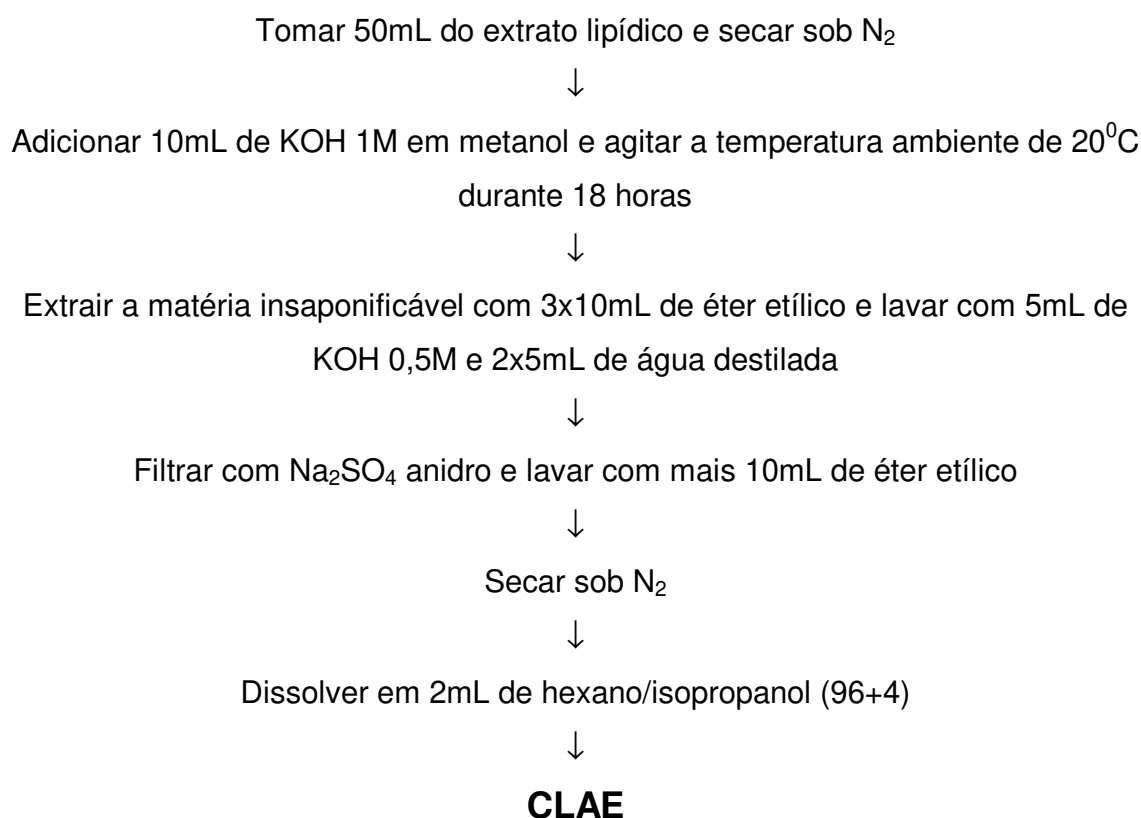


Figura 1. Fluxograma da determinação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol de acordo com SANDER *et al.* (1989).

Para a determinação simultânea de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados, por CLAE, utilizando detector por conjunto de diodos e detector por índice de refração, em série, foram testadas algumas alterações nas condições cromatográficas estabelecidas por BAGGIO *et al.* (2002). Estas modificações foram realizadas na tentativa de obter uma melhor separação dos isômeros 5,6 $\alpha$ - e 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7 $\alpha$ - e 7 $\beta$ -hidroxicoolesterol. Foi também modificada para separar o 6-cetocolesterol, o qual seria utilizado como padrão interno, do 7-cetocolesterol. Os testes realizados com as condições cromatográficas consistiram em algumas modificações como temperatura da coluna, fase móvel e vazão. Mantendo-se a fase móvel de hexano/isopropanol (96+4), trabalhou-se variando a temperatura da coluna para 25, 30 e 35°C e para cada uma dessas temperaturas, utilizou-se vazões de 0,8 e de 1,0mL/min. Foram testadas também outras proporções para a fase móvel de hexano/isopropanol, sendo (90+10), (95+5) e (98+2), testando várias temperaturas da coluna (25, 30, 32 e 35°C) e trabalhando também com vazões de 0,8 e 1,0mL/min.

Foi utilizado um cromatógrafo líquido (Shimadzu) com sistema quaternário de solventes (LC-10ATVP), válvula "Rheodyne" com alça de amostragem de 20 $\mu$ L, forno de coluna (CTO-10ASVP), detector por conjunto de diodos (SPD-M10AVP) e detector por índice de refração (RID-10A), e software (CLASS-VP). Os espectros de absorbância foram obtidos entre 200 e 400nm e os cromatogramas foram registrados a 210nm.

A identificação dos picos do colesterol e dos óxidos de colesterol determinados nas amostras analisadas pelo detector por índice de refração foi através da comparação dos tempos de retenção do padrão e o da amostra e co-cromatografia, e quando determinados pelo detector por conjunto de diodos, além dos parâmetros utilizados pelo índice de refração, os picos também foram identificados através dos espectros de absorbância.

A confirmação da identidade de cada pico foi realizada por cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-MS), usando um CG modelo HP 6890 acoplado a um MS HP 5973. A temperatura de interface foi de 320°C e a energia de impacto de elétrons foi de 70eV. Injetor splitless a 290°C, coluna capilar de

sílica fundida HP-5MS (30m x 0,25mm; espessura do filme 0,25µm) com temperatura programada: temperatura inicial 110<sup>0</sup>C/2min, elevou-se para 235<sup>0</sup>C numa escala de 40<sup>0</sup>C/min, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos, após elevou-se a temperatura a 310<sup>0</sup>C/5min numa escala de 1<sup>0</sup>C/min. O fluxo do gás de arraste (hélio) foi de 0,7mL/min. Os padrões de colesterol e de óxidos de colesterol e as amostras foram derivatizados de acordo com o método de SCHMARR *et al.* (1996).

A quantificação do colesterol e de seus produtos da oxidação foi realizada por padronização externa, com a concentração do colesterol variando de 0,5 a 2,5 mg/mL e a concentração dos óxidos de colesterol de 1 a 60µg/mL.

A recuperação do método para produtos cárneos processados foi feita utilizando-se amostras de peito de peru defumado, adicionando-se 10mg de colesterol e 40µg de 7-cetocolesterol e 5,6β-epoxicolesterol.

O limite de detecção e o limite de quantificação para o colesterol e para os óxidos de colesterol foram calculados de acordo com CHAIRMAN *et al.* (1983). A média do desvio padrão de dez repetições multiplicado por três é igual ao limite de detecção e multiplicado por dez é igual ao limite de quantificação.

### 2.2.1 – Análise estatística

Para verificar as diferenças entre os dois sistemas de detecção, os teores de colesterol e de 7-cetocolesterol obtidos nos produtos cárneos processados de peru foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a nível de 5%.

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a determinação simultânea, por CLAE, de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados, utilizando detector por conjunto de diodos e detector por índice de refração, em série, a condição cromatográfica que apresentou melhor resultado, isto é, maior seletividade, resolução e eficiência foi a estabelecida por BAGGIO *et al.* (2002) para carne de peru, sendo: coluna de guarda Hypersil BDS CN (7,5 x 4,6mm, 5 $\mu$ m); coluna Nova Pak CN HP (300 x 3,9mm, 4 $\mu$ m, Watters, USA); temperatura da coluna de 32<sup>o</sup>C; fase móvel composta de hexano/isopropanol (96+4) com vazão de 1,0mL/min. Nestas condições cromatográficas, conseguiu-se detectar o colesterol e os óxidos de colesterol: colest-4,6-dien-3-ona, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol e 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, pelo detector por conjunto de diodos e todos estes compostos mais o 5,6 $\alpha$ -epoxicoolesterol e o 5,6 $\beta$ -epoxicoolesterol, pelo detector por índice de refração. Cromatogramas e espectros de absorbância característicos podem ser observados nas Figuras 1 a 5 do Anexo 1.

A quantificação do colesterol e de seus produtos de oxidação não foi possível por padronização interna. Tentou-se utilizar o óxido de colesterol 6-cetolesterol como padrão interno, porém, este composto apresentou o mesmo tempo de retenção do 7-cetolesterol quando determinados pelo detector por conjunto de diodos, o que pode ser observado nos cromatogramas da Figura 1 do Anexo 2.

Nas amostras de produtos processados de carne de peru analisadas foram identificados o colesterol, o 7-cetolesterol e o 5,6 $\beta$ -epoxicoolesterol, os quais foram confirmados por espectrometria de massas, cujos espectros de massas estão apresentados nas Figuras 1 a 3 do Anexo 3.

Os resultados obtidos pelo detector por conjunto de diodos e pelo detector por índice de refração para colesterol e 7-cetolesterol identificados nas amostras de almôndegas, blanquete, peito defumado, hambúrguer, presunto,



presunto defumado, roulé e salsicha estão apresentados na Tabela 1. Os teores de colesterol obtidos pelo detector por índice de refração foram maiores que os conseguidos pelo detector por conjunto de diodos, embora não apresentassem diferença significativa entre eles (Tabela 1). No cromatograma obtido pelo detector por índice de refração, o pico do colesterol está melhor separado do pico do solvente e dos interferentes presentes nas amostras que o cromatograma obtido pelo detector por conjunto de diodos (Figuras 1, 2 e 3 do Anexo 1).

Os valores de 7-cetocolesterol variaram grandemente entre as amostras analisadas e entre os dois sistemas de detecção. Foi o óxido de colesterol mais freqüente entre as amostras analisadas. Pelo detector por conjunto de diodos os valores variaram de não detectado no blanquete, no peito defumado e no roulé a 1,84µg/g na salsicha. No detector por índice de refração, esta variação foi de não detectado nas almôndegas, no blanquete, no peito defumado, no hambúrguer, no roulé e na salsicha a 17,32µg/g no presunto defumado. Os valores determinados pelo índice de refração foram maiores que os valores determinados pelo detector por conjunto de diodos, o que pode ser devido à presença de algum interferente.

Os teores de 5,6β-epoxicolesterol obtidos nas amostras analisadas variaram de não detectado nas almôndegas, no blanquete, no peito defumado, no hambúrguer, no presunto e na salsicha a 4,50µg/g no roulé. Este óxido de colesterol apresentou maior incidência nas amostras de presunto defumado e roulé.

Tabela 1. Teores de colesterol (mg/100g), 7-cetocolesterol e 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol ( $\mu$ g/g) em produtos processados de carne de peru obtidos pelos detectores por conjunto de diodos e índice de refração.

| Amostras*         | Colesterol |        | 7-cetocolesterol |         | 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol |
|-------------------|------------|--------|------------------|---------|------------------------------|
|                   | DAD        | IR     | DAD              | IR      | IR                           |
| Almôndegas        |            |        |                  |         |                              |
| 1                 | 36,0 a     | 40,5 a | 0,50 b           | 2,77 a  | 3,39                         |
| 2                 | 40,2 a     | 43,7 a | 1,19 b           | 2,41 a  | nd                           |
| 3                 | 39,2 a     | 42,1 a | 0,44             | nd      | nd                           |
| 4                 | 30,0 a     | 33,5 a | 0,65             | nd      | nd                           |
| Blanquete         |            |        |                  |         |                              |
| 1                 | 35,0 a     | 37,8 a | 0,88 b           | 6,96 a  | 1,86                         |
| 2                 | 29,6 a     | 32,2 a | 0,48 b           | 1,64 a  | 1,70                         |
| 3                 | 27,3 a     | 28,1 a | 0,51             | nd      | nd                           |
| 4                 | 25,1 a     | 27,7 a | nd               | 6,62    | 1,19                         |
| Peito defumado    |            |        |                  |         |                              |
| 1                 | 31,4 a     | 34,2 a | nd               | nd      | nd                           |
| 2                 | 33,3 a     | 40,7 a | nd               | nd      | 1,81                         |
| 3                 | 25,5 a     | 29,0 a | 0,55 b           | 0,73 a  | 0,87                         |
| 4                 | 29,5 a     | 32,6 a | 0,35             | nd      | nd                           |
| Hambúrguer        |            |        |                  |         |                              |
| 1                 | 35,7 a     | 38,5 a | 0,82 b           | 9,05 a  | nd                           |
| 2                 | 37,0 a     | 41,2 a | 1,73             | nd      | 2,30                         |
| 3                 | 38,8 a     | 40,0 a | 0,35             | nd      | nd                           |
| 4                 | 35,1 a     | 38,5 a | 0,32 b           | 7,47 a  | 2,06                         |
| Presunto          |            |        |                  |         |                              |
| 1                 | 38,3 a     | 42,4 a | 1,12 b           | 7,61 a  | nd                           |
| 2                 | 38,0 a     | 43,1 a | 0,62 b           | 3,16 a  | 2,49                         |
| 3                 | 29,0 a     | 32,0 a | 0,31 b           | 9,78 a  | 1,30                         |
| 4                 | 31,8 a     | 35,0 a | 0,44 b           | 5,25 a  | 2,13                         |
| Presunto defumado |            |        |                  |         |                              |
| 1                 | 41,5 a     | 48,0 a | 1,40 b           | 12,65 a | 0,92                         |
| 2                 | 44,4 a     | 53,1 a | 0,47 b           | 17,32 a | 1,54                         |
| 3                 | 30,3 a     | 33,3 a | 0,34 b           | 6,61 a  | 0,80                         |
| 4                 | 35,2 a     | 39,0 a | 0,66 b           | 2,37 a  | 3,40                         |
| Roulé             |            |        |                  |         |                              |
| 1                 | 42,0 a     | 45,2 a | 1,00             | nd      | 1,40                         |
| 2                 | 35,8 a     | 37,0 a | 0,38             | nd      | 2,42                         |
| 3                 | 28,0 a     | 32,1 a | nd               | nd      | 4,50                         |
| 4                 | 34,5 a     | 38,0 a | 0,67 b           | 8,79 a  | 1,92                         |
| Salsicha          |            |        |                  |         |                              |
| 1                 | 37,1 a     | 40,2 a | 1,13             | nd      | nd                           |
| 2                 | 38,5 a     | 41,3 a | 1,84 b           | 9,38 a  | 1,12                         |
| 3                 | 27,7 a     | 31,0 a | 0,71 b           | 8,19 a  | 1,30                         |
| 4                 | 29,7 a     | 33,1 a | 0,70 b           | 9,12 a  | 0,97                         |

DAD = detector por conjunto de diodos, IR = detector por índice de refração. \*Amostras = quatro lotes com diferentes datas de produção analisados em duplicata. Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%. nd = não detectado

Os resultados dos testes de recuperação, limite de detecção e limite de quantificação realizados para o colesterol e para os óxidos de colesterol pelo método inteiro, ou seja, extração dos lipídios segundo FOLCH *et al.* (1957), saponificação, extração da matéria insaponificável e determinação por CLAE, utilizando detector por conjunto de diodos e detector por índice de refração, encontram-se nas Tabelas 2 e 3, respectivamente. Observa-se também a repetibilidade do método através do coeficiente de variação.

Tabela 2. Taxas de recuperação, limite de detecção e limite de quantificação do colesterol (mg/100g) e do 7-cetocolesterol ( $\mu\text{g/g}$ ) em amostras de peito de peru defumado, determinados pelo detector por conjunto de diodos.

| Compostos             | n  | %<br>Recuperação | DP   | % CV | Limite de<br>Detecção | Limite de<br>Quantificação |
|-----------------------|----|------------------|------|------|-----------------------|----------------------------|
| Colesterol            | 10 | 88,81            | 0,16 | 0,40 | 0,48                  | 1,60                       |
| 7-ceto-<br>colesterol | 10 | 91,15            | 0,03 | 0,12 | 0,09                  | 0,30                       |

n = número de repetições; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação

Tabela 3. Taxas de recuperação, limite de detecção e limite de quantificação do colesterol (mg/100g) e dos óxidos de colesterol ( $\mu\text{g/g}$ ) em amostras de peito de peru defumado, determinados pelo detector por índice de refração.

| Compostos                         | n  | %<br>Recuperação | DP   | % CV | Limite de<br>Detecção | Limite de<br>Quantificação |
|-----------------------------------|----|------------------|------|------|-----------------------|----------------------------|
| Colesterol                        | 10 | 90,23            | 0,24 | 0,55 | 0,72                  | 2,40                       |
| 7-ceto-<br>colesterol             | 10 | 111,44           | 0,06 | 0,25 | 0,18                  | 0,60                       |
| 5,6 $\beta$ -epoxi-<br>colesterol | 10 | 93,90            | 0,04 | 0,30 | 0,12                  | 0,40                       |

n = número de repetições; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação

Observa-se que o resultado obtido no presente trabalho para a recuperação do colesterol pelo detector por índice de refração foi ligeiramente maior que pelo detector por conjunto de diodos. Resultados semelhantes foram obtidos na comparação entre os dois sistemas de detecção em amostras de produtos processados de carne de peru. A melhor separação do colesterol detectada pelo índice de refração é responsável por valores mais elevados.

A recuperação do 7-cetocolesterol com o detector por índice de refração (111,44%) foi maior que o valor obtido com o detector por conjunto de diodos (91,15%), o que pode ser devido à detecção de algum interferente. O valor mais elevado para a recuperação do 7-cetocolesterol com o detector por índice de refração está de acordo com os resultados obtidos nas amostras, demonstrando mais uma vez que este óxido, nas condições de análise, é melhor quantificado pelo detector por conjunto de diodos.

A recuperação do 7-cetocolesterol, tanto pelo detector por conjunto de diodos (91,15%) como pelo detector por índice de refração (111,44%) foram maiores que os valores encontrados por CSALLANY *et al.* (1989) com detector UV (88%) e por NIELSEN *et al.* (1995) utilizando detector por índice de refração (100%). De acordo com estes autores, como a quantidade de óxidos de colesterol é muito pequena, altas recuperações podem não ser encontradas.

Os limites de detecção do colesterol e dos óxidos de colesterol foram menores para o detector por conjunto de diodos que para o índice de refração, como esperado, uma vez que o índice de refração tem menor sensibilidade.

O limite de detecção encontrado para o colesterol no presente trabalho, utilizando o detector por conjunto de diodos (0,48mg/100g), foi maior que o valor encontrado por CSALLANY *et al.* (1989) (1,10µg/g), enquanto que para o 7-cetocolesterol foi encontrado valor menor (0,09µg/g) do que o encontrado pelos referidos autores (0,38µg/g). ROSE-SALIN *et al.* (1993) encontraram também valor maior para o 7-cetocolesterol, sendo 0,9µg/g.

Os trabalhos realizados com detector por índice de refração, encontrados na literatura, não apresentaram limites de detecção para o colesterol e para os óxidos de colesterol.

A repetibilidade do método foi excelente para os dois detectores, embora o índice de refração tenha apresentado valores maiores, provavelmente devido a dificuldade de manter o sistema de detecção estável. Os coeficientes de variação obtidos para o 7-cetocolesterol foram inferiores aos encontrados por PENAZZI *et al.* (1995), os quais encontraram 3,9 e 3,7% em amostras de massas com ovos, biscoitos, lanches, queijos gratinados, leite e ovos em pó, utilizando dois métodos por CLAE. ROSE-SALIN *et al.* (1993) consideram que obtiveram boa repetibilidade com valores para coeficiente de variação de 0,5 a 1,2% nos óxidos encontrados (25-hidroxicolesterol, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -diol-6-ona, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol e 7-cetocolesterol) em amostras de produtos lácteos.

## **4 – CONCLUSÃO**

Através da cromatografia líquida de alta eficiência foi possível quantificar com precisão e exatidão o colesterol e o 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol pelo detector por índice de refração e o 7-cetocolesterol pelo detector por conjunto de diodos.

## **5 – AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte e apoio financeiro.

---

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANSARI, G. A. S. & SMITH, L. L. High-performance liquid chromatography of cholesterol autoxidation products. **J. Chrom.**, **175**: 307, 1979.

BAGGIO, S. R.; BRAGAGNOLO, N. & VICENTE, E. Cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid composition of turkey meat. **J. Agric. Food Chem.**, **50**: 5981-5986, 2002.

CARERI, M.; MANGIA, A.; MUSCI, M. & PAROLARI, G. Development of gas chromatographic method for determination of cholesterol oxides in meat products. **Chromatographia**, **47(1/2)**: 42-48, 1998.

CARERI, M.; FERRETTI, D.; MANINI, P. & MUSCI, M. Evaluation of particle beam high-performance liquid chromatography-mass spectrometry for analysis of cholesterol oxides. **J. Chrom.**, **794**: 253-262, 1998.

CHAIRMAN, L. H. K.; CRUMMETT, W.; DEEGAN, J. J.; LIBBY, R.O.; TAYLOR, J. K. & WENTLER, G. Principles of Environmental Analysis. **Am. Chem. Soc.**, **55**: 2210, 1983.

CHEN, Y. C.; CHIU, C. P. & CHEN, B. H. Determination of cholesterol oxides in heated lard by liquid chromatography. **Food Chem.**, **50**: 53, 1994.

CSALLANY, A. S., KINDOM, S. E., ADDIS, P. B. & LEE, J. HPLC method for quantitation of cholesterol and four of its major oxidation products in muscle and liver tissues. **Lipids**, **24**: 645, 1989.

FINOCCHIARO, E. T. & RICHARDSON, T. Sterol oxides in foodstuffs: a review. **J. Food Prot.**, **46**: 917, 1983.

FINOCCHIARO, E. T.; LEE, K. & RICHARDSON, T. Identification and quantification of cholesterol oxides in grated cheese and bleached butter oil. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **61**: 877, 1984.

FOLCH, J. LESS, M. & STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, **226**: 497, 1957.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P. B.; RAFECAS, M. & BOATELLA, Biological effects of oxysterols: current status. **Food Chem. Toxicol.**, **34**: 193, 1996.

McCLUSKEY, S. & DEVERY, R. Validation of chromatography analysis of cholesterol oxides in dried foods. **Trends Food Sci. Technol.**, **4**: 175, 1993.

NIELSEN, J. H.; OLSEN, C. E.; DUEDAHL, C. & SKIBSTED, L. H. Isolation and quantitation of cholesterol oxides in dairy products by selected ion monitoring mass spectrometry. **J. Dairy Res.**, **62**: 101, 1995.

OSADA, K.; KODAMA, T.;YAMADA, K. & SUGANO,M. Oxidation of Cholesterol by Heating. **J. Agric. Food Chem.**, **41**: 1198, 1993.

PARK, S. W. & ADDIS, P. B. Cholesterol oxidation products in some muscle foods. **J. Food Sci.**, **52**: 1500, 1987.

PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; ZUNIN, P.; EVANGELIST, F.; TISCORNIA, E.; TOSCHI, T. G. & LERCKER, G. Routine high-performance liquid chromatographic determination of free 7-ketocholesterol in some foods by two different analytical methods. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **72**: 1523, 1995.

ROSE-SALIN, C.; BAUMANN, E.; BUTIKOFER, U.; SIEBER, R. & BOSSET, J. O. Contribution au dosage des oxystérols dans le lait et les produits laitiers. I. Possibilités et limites des techniques RP-HPLC. **Trav. Chim. Aliment. Hyg.**, **84**: 141, 1993.

ROSE-SALLIN, C.; HUGGETT, A. C.; BOSSET, J. O.; TABACCHI, R. & FAY, L. B. Quantification of cholesterol oxidation products in milk powders using [<sup>2</sup>H<sub>7</sub>] cholesterol to monitor cholesterol autoxidation artifacts. **J. Agric. Chem.**, **43**: 935, 1995.

SANDER, B. D.; ADDIS, P. B.; PARK, S. W. & SMITH, D. E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. **J. Food Prot.**, **52**: 109, 1989.

SCHMARR, H.; GROSS, H. B.; SHIBAMOTO, T. Analysis of polar cholesterol oxidation products: evaluation of a new method involving transesterification, solid phase extraction, and gas chromatography. **J. Agri. Food Chem.**, **44**: 512, 1996.

SMITH, L. L. Cholesteol Autoxidation. **Chem. Physis. Lipids**, **44**: 87, 1987.

SMITH, L. L. Analysis of oxysterols by liquid chromatography. **J. Liq. Chrom.**, **16**: 1731, 1993.

TENG, J. I.; KULIG, M. J.; SMITH, L. L. ; KAN, G. & LIER, E. V. Sterol metabolism XX. Cholesterol 7 $\beta$ -hydroperoxide. **J. Org. Chem.**, **38**: 119, 1973.

YAN, P. S. & WHITE, P. J. Cholesterol oxidation in heated lard enriched with two levels of cholesterol. **J. AOCS.**, **67**: 927, 1990.



## **CAPÍTULO 3**

# **SIMULTANEOUS DETERMINATION OF CHOLESTEROL OXIDES, CHOLESTEROL AND FATTY ACIDS IN PROCESSED TURKEY MEAT PRODUCTS**

**Trabalho aceito para publicação no Food Chemistry**

## ABSTRACT

Total lipids, cholesterol, cholesterol oxides and fatty acids were determined in the lipid extracts from eight processed turkey meat products (blanquet, frankfurter, ham, meatball, smoked breast, smoked ham and roule). Cholesterol and cholesterol oxides were determined simultaneously by high performance liquid chromatography using a diode array detector at 210 nm and a refractive index detector. Two cholesterol oxides were identified, 7-ketocholesterol (not detected up to 184  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) and  $\beta$ -epoxycholesterol (not detected up to 450  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ). The cholesterol content ( $\text{mg}/100\text{g}$ ) showed no significant difference between the turkey meat products, varying from 32 in the blanquet and smoked breast to 43 in the smoked ham. The total lipid contents ( $\text{g}/100\text{g}$ ) varied from 1.1 in the smoked breast to 14 in the meatballs. Twenty fatty acids were identified, the main ones being C18:1 $\omega$ 9, C18:2 $\omega$ 6, C16:0, C18:0 and C16:1 $\omega$ 7.

**KEYWORDS:** processed turkey meat products; cholesterol oxides; cholesterol; total lipids; fatty acids

---

## INTRODUCTION

World consumption of turkey meat increased by 10% from 1997 to 2002 (1), due to its alleged characteristic of presenting low levels of cholesterol, total lipids and saturated fatty acids. Apart from this, good acceptability due to its neutral taste and smooth texture is another important factor responsible for its growing place on the market. The United States and the European Union are the greatest consumers (1). However, processed turkey meat products contain considerable amounts of polyunsaturated fatty acids (PUFA), and undergo heat processing and disintegration of the meat during processing (2), making them highly susceptible to oxidation. On the other hand, the PUFA are considered anticholesterolemic although the beneficial effects of PUFA depend on the ratio of omega 6 ( $\omega 6$ ) to omega 3 ( $\omega 3$ ) fatty acids. The recommended value is 4.0 for the diet as a whole (3).

Although cholesterol is a relatively stable compound, it can be oxidized under harsh conditions. Oxidation of cholesterol in muscle foods can be influenced by many factors such as processing temperature, storage time, packaging conditions and lipid composition (4). Smith (5) suggested that hydroperoxides of polyunsaturated fatty acids, formed during lipid oxidation, might be necessary to initiate cholesterol oxidation, and unsaturated fat could increase the oxidation of cholesterol synergistically.

Eight common oxysterols have been identified in foods: 25-hydroxycholesterol, cholestanetriol,  $\alpha$ - and  $\beta$ -epoxycholesterol, 7 $\alpha$ - and 7 $\beta$ -hydroxycholesterol, 7-ketocholesterol and cholesta-3,5-dien-7-one, which is actually an artifact derived from 7-ketocholesterol during isolation (6). These compounds possibly contribute to the initiation of the formation of arteriosclerotic deposits, principally cholestanetriol and 25-hydroxycholesterol (7, 8). Furthermore, these compounds have received much attention due to their undesirable biological effects such as cytotoxic, mutagenic and carcinogenic effects (7, 9, 10) and the inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, (HMG-CoA reductase), activity (9).

Since human plasma cholesterol is dependent not only on the dietary cholesterol level but also on the fatty acid composition, the simultaneous determination of these food components and oxysterols was carried out in processed turkey meat products.

## MATERIALS AND METHODS

**Materials.** Cholesterol, cholesta-3,5-dien-7-one, 20 $\alpha$ -hydroxycholesterol, 25-hydroxycholesterol, 7-ketcholesterol,  $\alpha$  and  $\beta$ -epoxycholesterol and 7 $\beta$ -hydroxycholesterol were purchased from Sigma Chemical Company (St. Louis, USA). 7 $\alpha$ -Hydroxycholesterol was obtained from Steraloids Inc. (Wilton, USA). A total of 36 saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acid standards (Sigma, St. Louis, USA) were used.

**Sample preparation.** Eight processed turkey products were examined, these being blanquet, frankfurter, ham, meatball, smoked chest, smoked ham and roule. Blanquet and roule are chunked and formed turkey meat products (breast for blanquet and drumstick for roule). The basic compositions of each product are listed in Table 1. The samples were packaged in vacuum packs. Five different batches of each sample were acquired from supermarkets in Campinas, State of São Paulo, Brazil. Each batch, consisting of three units, was taken at random. The samples were ground and blended in a multiprocessor. Samples of 50g were taken for analysis, each being carried out in duplicate.

**Lipid extraction.** The lipids were extracted according to Folch et al. (11). From this extract, an aliquot of 10 mL was taken and the total lipid content determined gravimetrically. Another aliquot (50 mL) was taken for the determination of cholesterol and its cholesterol oxides by high performance liquid chromatography (HPLC). A further aliquot, containing approximately 100 mg of lipid was taken, and the fatty acid composition determined by gas chromatography (GC).

**Simultaneous determination of cholesterol and cholesterol oxides by high performance liquid chromatography.** Aliquots of the lipid extracts (50 mL) were dried in a rotary evaporator, saponified in the cold (10 mL of 1 N KOH in methanol for 18 h at 20°C) and the non-saponifiable matter extracted with deperoxidized diethyl ether (12, 13). The diethyl ether extract was dried in a vacuum evaporator and freed of solvent by using a nitrogen flush before dissolving in 2 mL of mobile phase and injecting into the HPLC (13).

For HPLC, a Shimadzu chromatograph was used, equipped with a quaternary solvent delivery system (LC-10ATVP), rheodyne injector with a 20µL loop, photodiode array (SPD-M10AVP) and refractive index (RID-10A) detectors, oven heated column (CTO-10ASVP) and software (CLASS – LC 10). The analytical column was a Nova Pak CN HP, 300 x 3.9 mm column, 4 µm (Waters, USA); preceded by a Hypersil BDS CN 7.5 x 4.6 mm, 5 µm guard column; and the column temperature was 32°C. The mobile phase consisted of hexano/isopropanol (96+4) at a flow rate of 1.0 mL/min. Absorption spectra were taken from 200 to 400 nm and the chromatograms at 210 nm.

Quantification was done by external standardization, with a concentration range from 0.5 to 2.22 mg/mL for cholesterol and from 0.5 to 64.0 µg/mL for the cholesterol oxides. Cholesterol and β-epoxycholesterol were quantified using a refractive index detector (Figure 2), the cholesterol because it is better separated from interfering substances in this case and the β-epoxycholesterol because it does not absorb ultraviolet light. 7-ketocholesterol was quantified using the photodiode array detector. Characteristic chromatograms of the cholesterol and cholesterol oxide standards and of the blanquet samples can be seen in Figures 1 and 2. The order of chromatographic elution of cholesterol and its oxides and their chemical and common names are given in Table 2.

Identification of cholesterol and its oxides was performed by comparison of the retention times of the samples with those of the standards, co-chromatography and the characteristics of the absorption spectrum. Confirmation of the identity was carried out using a gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS) Hewlett Packard 6890 GC and 5973 MS. The GC/MS conditions were as follows: HP-5MS

(Palo Alto, USA) fused-silica capillary column (30 m x 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 mm); carrier gas of helium at 0.7 mL/min; splitless injection at 290°C. The oven temperature program was as follows: 110°C (2 min), increasing to 235°C at 40°C/min (5 min) and then at 1°C/min to 310°C (5 min); interface temperature, 320°C. The mass spectrometers were operated under electron ionization conditions with an electron energy of 70eV. The samples and standards of cholesterol and its oxides were derivatized according to Schmarr et al. (14).

The accuracy of the method was evaluated from the recovery by adding 10 mg of the cholesterol and 40 µg of 7-ketocholesterol and β-epoxycholesterol to 50 g of the smoked breast. The percent recoveries for cholesterol, 7-ketocholesterol and β-epoxycholesterol were  $90.2 \pm 0.2\%$ ,  $91.2 \pm 0.0\%$  and  $93.9 \pm 0.0\%$ , respectively. The values for the coefficient of variation between duplicates of the samples varied from 0.0 to 0.03% and from 0.0 to 0.04% for β-epoxycholesterol and 7-ketocholesterol, respectively, demonstrating the good precision of the method. The detection and quantification limits for cholesterol, β-epoxycholesterol and 7-ketocholesterol were 0.72 mg/100g and 2.40 mg/100g, 12 µg/100g and 40 µg/100g and 9 µg/100g and 30 µg/100g, respectively, calculated according to Chairman et al. (15). During the analysis care was also taken to avoid the formation of artifacts and it appears this did not occur since when fresh chilled turkey meat was analyzed, no cholesterol oxides were found.

**Determination of the fatty acid composition.** The dried lipid extract was esterified with a solution of ammonium chloride and sulfuric acid in methanol (16). Fatty acid methyl esters were separated on a gas chromatograph (Philips, PU 4550) equipped with a split injector (100:1), fused silica capillary column (50 m x 0.25 mm i.d., 0.20 µm film thickness of polyethylene glycol) (CP-SIL 88, Cromapak, Netherlands), flame ionization detector and workstation (Borwin, France). The column temperature was 180°C (isothermal), the injector temperature was set at 270°C and the detector temperature at 300°C. The carrier gas was hydrogen at a flow rate of 0.5 mL/min and nitrogen was used as the make-up gas at 30 mL/min. The fatty acids were identified by comparison of the retention times of the sample

with those of the standards and by spiking. Quantification was done as area percentages.

**Statistical analysis.** To verify the differences among the processed turkey meat products, the results for cholesterol, total lipid and fatty acids were submitted to an analysis of variance (ANOVA) at the 5% level of confidence.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Total lipids and cholesterol

Table 3 shows the results for cholesterol and total lipids found in the samples of turkey meat products.

The cholesterol content showed no significant difference between the products, varying from 32 mg/100g in the blanquet and smoked breast to 43 mg/100g in the smoked ham. Although there was no significant difference amongst the products, the blanquet and smoked breast, made from white meat, presented lower values than the remaining products, all of which were formulated with dark meat.

The total lipid content varied from 1.1 g/100g in the smoked breast to 14 g/100g in the meatballs. There was no significant difference in total lipid content between the meatballs and the hamburger, nor between the samples of blanquet, roule, ham and smoked ham. The smoked breast showed the lowest values for total lipids and cholesterol, whilst the greatest values were found in the meatballs and hamburger. The higher lipid values found in the meatballs and hamburger are due to the addition of hydrogenated vegetable fat, whilst those of the frankfurters were due to the addition of mechanically deboned poultry meat and those of the blanquet to the addition of turkey fat. The lipid content of the remaining products reflected the amount of fat present in the turkey meat. According to data in the literature, the lipid content of the white meat varies from 0.5 to 2.0% and that of the dark meat from 1.0 to 6.65% (13, 17, 18, 19).

Higher cholesterol values were found in turkey ham according to both Al-Hassani et al. (20) (68.2 mg/100g) and the USDA Database (18) (64 mg/100g). King et al. (21) found higher values for cholesterol in some turkey meat processed products, these being  $116 \pm 3$  mg/100g for ham,  $118 \pm 5$  mg/100g for pastrami and  $114 \pm 15$  mg/100g for bologna. Similar value for cholesterol was reported in turkey sausages by Pereira et al. (22). The value for lipid in the ham was, however, similar to that described in the USDA Database (18).

Comparing the total lipid and cholesterol contents of the turkey meat products obtained in this study with those of other processed meat products, it can be seen that in general the turkey products have lower total lipid contents, but the values for cholesterol are similar in some samples. Novelli et al. (2) found values for mortadella and salame Milano samples (both are pork products) which varied from 22.74 to 35.97 g/100g for lipids and from 34.29 to 138.14 mg/100g for cholesterol. Pereira et al. (22) found values for lipids of 11.4 and 9.54 g/100g in chicken and chester sausages respectively and 43.6 mg/100g for cholesterol in both products.

A comparison was made between the values found for total lipids in this study, and the values shown on the respective product packages (Table 4). It can be seen that the values are similar.

### **Cholesterol oxides**

The total amount of cholesterol oxides varied from not detected in a sample of smoked turkey breast to 450  $\mu$ g/100g in the roule. Of the cholesterol oxides analyzed (cholesta-3,5-dien-7-one,  $20\alpha$ -hydroxycholesterol, 25-hydroxycholesterol, 7-ketocholesterol,  $7\beta$  and  $7\alpha$ -hydroxycholesterol and  $\alpha$  and  $\beta$ -epoxycholesterol), only two were found in the turkey meat products analyzed, these being 7-ketocholesterol and 5,6 $\beta$ -epoxycholesterol, their identities being confirmed by mass spectroscopy.

The values obtained for the cholesterol oxides varied considerably between samples and between batches, and thus the values were presented separately (Table 5). 7-ketocholesterol varied from not detected in the blanquet, smoked



breast and roule to 184  $\mu\text{g}/100\text{g}$  in the frankfurter, and  $\beta$ -epoxycholesterol varied from not detected (meatballs, blanquet, hamburger, smoked breast, ham and frankfurter) to 450  $\mu\text{g}/100\text{g}$  in the roule. Some factors, such as cooking, mincing, packaging, irradiation and storage time and conditions, are important in the formation of cholesterol oxides. Münch and Arneth (23) verified in their studies on heated meat products that curing salt possessed a strong effect in lowering oxidation in some products. Nam et al. (19) observed that vacuum packaging of raw meats was sufficient to protect cholesterol and fatty acids from oxidation.

Higley and Taylor (24) analyzed for cholesterol oxides in selected meat samples and found 8600  $\mu\text{g}/100\text{g}$  of cholestanetriol and traces of 22-S-hydroxycholesterol in the turkey bologna. Nam et al. (19) found  $7\alpha$  plus  $7\beta$ -hydroxycholesterol (239.4  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ), and 7-ketocholesterol (18  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) in raw, non-irradiated turkey leg meat after 7 days of storage in vacuum packaging. However, in cooked turkey leg meat, under the same conditions, 6 cholesterol oxides were found (25) and the total amount of cholesterol oxides was higher. Baggio et al. (13) found 7-ketocholesterol (33 to 765  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) and  $7\beta$ -hydroxycholesterol (nd to 370  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) in different turkey meat cuts. Sander et al. (12) found  $\beta$  and  $\alpha$ -epoxycholesterol, 7-ketocholesterol and  $7\beta$ -hydroxycholesterol in freeze-dried turkey meat, and the values obtained were always higher than those found in this study.

Although the meat products analyzed were not made from turkey meat, a comparison was made. Higher values of 7-ketocholesterol were found in eight commercial species of meat products (26), and similar values for 7-ketocholesterol in mortadella and Milano salami (2), except for three samples. Lower values for  $\beta$ -epoxycholesterol were found in raw hamburger (100% beef) and meatballs (50% pork + 50% beef) (27). The following were also found,  $7\alpha$ -hydroxycholesterol (27),  $7\beta$ -hydroxycholesterol (2), 5,6 $\alpha$ -epoxycholesterol, (26, 27), cholestanetriol (26, 27), 25-hydroxycholesterol (2) and 20 $\alpha$ -hydroxycholesterol (14).

### Fatty acid composition

The main fatty acids found in the products were: C18:1 $\omega$ 9, C18:2 $\omega$ 6, C16:0, C18:0 and C16:1 $\omega$ 7 as shown in Table 6. Considering the total lipid content of the processed meat products, the samples of meatball showed higher values for C18:1 $\omega$ 9, C16:0 and C18:0, and the samples of frankfurter higher values for C16:1 $\omega$ 7 and C18:2 $\omega$ 6. With respect to the minor fatty acids, the fatty acid C14:0, C18:3 $\omega$ 3 and C20:2 $\omega$ 6 was lower in the smoked breast and C20:4 $\omega$ 6, C22:5 $\omega$ 3, C22:5 $\omega$ 6 and C22:6 $\omega$ 3 were higher in the smoked ham. The value for C20:4 $\omega$ 6 were lowest in the blanquet. The *trans* fatty acids C18:1 $\omega$ 9 and C18:2 $\omega$ 6 (9*c*,12*t* + 9*t*,12*t*) were present in high amounts in the samples of meatball and hamburger. The *trans* fatty acid contents found in the hamburger and meatballs were probably due to the addition of hydrogenated vegetable oils. Insignificant *trans* fatty acids were found in some samples which can be attributed to the poultry diet (17).

The saturated fatty acids content varied from 0.4 g/100g of sample in the smoked breast to 4.2 g/100g of sample in the hamburger, the fatty acid C16:0 being found in the greatest concentrations, followed by C18:0. The saturated fatty acids are considered to be hypercholesterolemic and the most worrying are lauric (C12:0), myristic (C14:0) and palmitic (C16:0) acids. According to Hayes et al. (28), C14:0 is the most hypercholesterolemic fatty acid and C16:0 the least. Stearic acid (C18:0) has a neutral effect on the blood cholesterol level, since it is quickly converted into oleic acid (C18:1 $\omega$ 9), a monounsaturated fatty acid considered to be hypocholesterolemic. A reduction in saturated fatty acids is desirable since these acids, coming from the diet, raise the blood cholesterol level and that of LDL (low density lipoprotein) (29).

The lowest monounsaturated fatty acids value was found in the smoked breast (0.4 g/100g of sample) and the greatest in the meatballs (7.7 g/100g of sample). The fatty acid found in greatest proportions was C18:1 $\omega$ 9, followed by C16:1 $\omega$ 7. The total polyunsaturated fatty acids content was lowest in the smoked breast (0.3 g/100g of sample) and greatest in the frankfurter (2.6 g/100g of sample), the C18:2 $\omega$ 6 fatty acid being that found in greatest amounts.

Ferreira et al. (30) found means of 35, 38 and 26% of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, respectively, in processed turkey meat products. These values, in general, were similar to those found in this study, except that the values for saturated acids in the meatballs and hamburger were higher and the monounsaturated acids lower. Pereira et al. (22) also found similar values to those found in this study for the saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in turkey sausages.

From the results it can be concluded that from the nutritional point of view, with the exception of the meatballs, hamburger and frankfurters, all the turkey meat products showed less than 5% fat, and could thus be considered as low fat foods (31). The ratio of polyunsaturated:saturated varied from 1.1 to 1.8, being above the recommended minimum value of 0.45. The ratio of  $\omega 6:\omega 3$  was much higher than the maximum recommended value of 4.0 for the whole diet (3). This implies that it is necessary to compensate for this deficiency with other components of the diet. *Trans* fatty acids were present in low amounts in the samples. Two oxysterols were found in the majority of the samples. However, the total oxide concentrations were below the levels considered necessary to give a toxic response in cell cultures (9).

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) and CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) for their financial support of this study.

## REFERENCES

1. USDA. *FASonline*. United State Department of Agriculture. 2001. (<http://www.fas.usda.gov/commodities>).

2. Novelli, E.; Zanardi, E.; Ghiretti, G. P.; Campanini, G.; Dazzi, G.; Madarena, G.; Chizzolini, R. Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame milano and mortadella. *Meat Sci.* **1998**, 48, 29-40.
3. Department of Health. Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. Report on Health and Social Subjects (n° 46). London: HMSO, 1994.
4. Paniangvait, P.; King, A. J.; Jones, A. D.; German, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. *J. Food Sci.* **1995**, 60, 1159-1174.
5. Smith, L. L. Cholesterol autoxidation 1981-1986. *Chem. Phys. Lipids* **1987**, 44, 87-125.
6. Finocchiaro, E. T.; Richardson, T. Sterol oxides in foods: a review. *J. Food Prot.* **1983**, 46, 917-925.
7. Kubow, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. *Trends Food Sci. Technol.* **1990**, 1, 67-70.
8. Kumar, N.; Singhal, O. P. Cholesterol oxides and atherosclerosis: a review. *J. Sci. Food Agric.* **1991**, 55, 487-510.
9. Guardiola, F.; Codony, R.; Addis, P. B.; Rafecas, M.; Boatella, J. Biological Effects of Oxysterols: Current Status. *Food Chem. Toxicol.* **1996**, 34, 193-211.
10. Sevanian, A.; Peterson, A. R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. *Food Chem. Toxicol.* **1986**, 24, 1103-1110.
11. Folch, J.; Less, M.; Stanley, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **1957**, 226, 497-509.
12. Sander, B. D.; Addis, P. B.; Park, S. W.; Smith, D. E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. *J. Food Prot.* **1989**, 52, 109-114.
13. Baggio, S. R.; Bragagnolo, N. Cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid composition of turkey meat. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 5981-5986.

14. Schmarr, H.; Gross, H. B.; Shibamoto, T. Analysis of polar cholesterol oxidation products: evaluation of a new method involving transesterification, solid phase extraction, and gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 512-517.
15. Chairman, L. H. K.; Crummett, W.; Deegan, J. J.; Libby, R. O.; Taylor, J. K.; Wentler, G. Principles of Environmental Analysis. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *55*, 2210-2217.
16. Hartman, L.; Lago, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab. Pract.* **1973**, *22*, 475-481.
17. Wong, M. K.; Sampugna, J. Moisture, total lipids, fatty acids and cholesterol in raw ground turkey. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 1229-1231.
18. USDA. *Nutrient Database for Standard Reference*, Release 14, Poultry Products, Nutrient Data Laboratory, Agricultural Research Service: Beltsville, MD, 2002. (<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR14/sr14doc.htm>).
19. Nam, K. C.; Du, M.; Jo, C.; Ahn, D. U. Cholesterol oxidation products in irradiated raw meat with different packaging and storage time. *Meat Sci.* **2001**, *58*, 431-435.
20. Al-Hassani, S. M.; Hlavac, J.; Carpenter, W. Rapid determination of cholesterol in single and multicomponent prepared foods. *J. AOAC Intern.* **1993**, *76*, 902-906.
21. King, A. J.; Paniangvait, P.; Jones, A. D.; German, J. B. Rapid method for quantitation of cholesterol in turkey meat and products. *J. Food Sci.* **1998**, *63*, 382-385.
22. Pereira, N. R.; Tarley, C. R. T.; Matsushita, M.; Souza, N. E. Proximate composition and fatty acid profile in Brazilian poultry sausages. *J. Food Comp. Anal.* **2000**, *13*, 915-920.
23. Münch, S, Arneth, W. Studies on the content of cholesterol oxides in heated meat products. *Mitteilungsblatt* **2001**, *40*, 177-186.
24. Higley, N. A.; Taylor, S. L. Cholesterol oxides in processed meats. *Meat Sci.* **1986**, *16*, 175-188.

25. Ahn, D. U., Nam, K. C.; Du, M.; Jo, C. Effect of irradiation and packaging conditions after cooking on the formation of cholesterol and lipid oxidation products in meats during storage. *Meat Sci.* **2001**, 57, 413-418.
26. Osada, K.; Hoshina, S.; Nakamura, S.; Sugano, M. Cholesterol oxidation in meat products and its regulation by supplementation of sodium nitrite and apple polyphenol before processing. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 3823-3829.
27. Larkeson, B.; Dutta, P. C.; Hansson, I. Effects of frying and storage on cholesterol oxidation in minced meat products. *J. AOCS* **2000**, 77, 675-680.
28. Hayes, K. C.; Pronczuk, A.; Lindsey, S.; Diersen-Schade, D. Dietary saturated fatty acids (12:0, 14:0, C16:0) differ in their impact on plasma cholesterol and lipoproteins in nonhuman primates. *Am. J. Clin. Nutr.* **1991**, 53, 491-498.
29. Sinclair, A. J. Dietary fat and cardiovascular disease: the significance of recent developments for the food industry. *Food Australia* **1993**, 45, 226-239.
30. Ferreira, M. M. C.; Morgano, M. A.; de Queiroz, S. C. N.; Mantovani, D. M. B. Relationships of the minerals and fatty acid contents in processed turkey meat products. *Food Chem.* **2000**, 69, 259-265.
31. Food Advisory Committee. Report on Review of Food Labelling and Advertising. London: HMSO, 1990.

TABLE 1 – Basic composition of processed turkey meat products

| Product       | Ingredients                                                                                                                                                                                                                                                                |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Blanquet      | White breast meat, turkey fat, water, soy protein, malt dextrin, cassava starch, salt, natural spices, sugar, sodium polyphosphate (INS 452i), carrageenan (INS 407), sodium nitrite (INS 250) and sodium erythorbate (INS 316).                                           |
| Ham           | Dark meat from whole drumstick, salt, malt dextrin, soy protein, natural spice, sugar, carmine natural color (INS 120), sodium nitrite (INS 250), carrageenan (INS 407), sodium polyphosphate (INS 452i), monosodium glutamate (INS 621) and sodium erythorbate (INS 316). |
| Hamburger     | Dark meat from drumstick, white breast meat, water, soy protein, malt dextrin, hydrogenated vegetable oils, natural spices, salt, sodium lactate (INS 325), sodium polyphosphate (INS 452i), natural pepper aroma and monosodium glutamate (INS 621).                      |
| Frankfurter   | Turkey meat, mechanically deboned poultry meat, soy protein, glucose, salt, starch, natural color, natural spices, sodium nitrite (INS 250), sodium polyphosphate (INS 452i), monosodium glutamate (INS 621).                                                              |
| Meatball      | White breast meat, dark meat from drumstick, water, soy protein, malt dextrin, hydrogenated vegetable oils, wheat flour, natural spices, breadcrumbs, vegetable protein, salt and sodium erythorbate (INS 316).                                                            |
| Roule         | Dark meat from drumstick, water, cassava starch, salt, natural spices, soy protein, malt dextrin, natural pepper aroma, carrageenan (INS 407), sodium polyphosphate (INS 452i), sodium nitrite (INS 250) and sodium erythorbate (INS 316).                                 |
| Smoked breast | White meat from whole breast, sugar, salt, malt dextrin, soy protein, natural spice, carrageenan (INS 407), sodium nitrite (INS 250), sodium polyphosphate (INS 452i) and sodium erythorbate (INS 316).                                                                    |
| Smoked ham    | Dark meat from whole drumstick, salt, malt dextrin, soy protein, natural spice, sugar, carmine natural color (INS 120), sodium nitrite (INS 250), carrageenan (INS 407), sodium polyphosphate (INS 452i), monosodium glutamate (INS 621) and sodium erythorbate (INS 316). |

TABLE 2. List of cholesterol oxides and their common names

| Order of<br>Chromatographic elution* | Systematic name                                              | Common name                     |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| 1                                    | Cholest-5-ene-3 $\beta$ -ol                                  | cholesterol                     |
| 2                                    | Cholesta-4,6-dien-3-one                                      | diene                           |
| 3                                    | Cholest-5-ene-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol                   | 20 $\alpha$ -hydroxycholesterol |
| 4                                    | Cholest-5-ene-3 $\beta$ ,25-diol                             | 25-hydroxycholesterol           |
| 5                                    | 5,6- $\alpha$ -epoxy-5 $\alpha$ -<br>cholestan-3 $\beta$ -ol | $\alpha$ -epoxycholesterol**    |
| 6                                    | 5,6- $\beta$ -epoxy-5 $\beta$ -cholestan-<br>3 $\beta$ -ol   | $\beta$ -epoxycholesterol**     |
| 7                                    | 3 $\beta$ -hydroxycholest-5-ene-<br>7-one                    | 7-ketocholesterol               |
| 8                                    | Cholesta-5-ene-3 $\beta$ , 7 $\beta$ -<br>diol               | 7 $\beta$ -hydroxycholesterol   |
| 9                                    | Cholesta-5-ene-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -<br>diol              | 7 $\alpha$ -hydroxycholesterol  |

\*As shown in Figures 1 and 2.

\*\*Only using the refractive index detector



TABLE 3. Cholesterol (mg/100g) and total lipid (g/100g) contents of the processed turkey meat products

| Samples       | Cholesterol* | Total Lipids** |
|---------------|--------------|----------------|
| Blanquet      | 32 ± 5 a     | 5.3 ± 0.4 c    |
| Frankfurter   | 36 ± 5 a     | 9.8 ± 0.7 b    |
| Ham           | 38 ± 5 a     | 3.7 ± 0.5 c    |
| Hamburger     | 39 ± 3 a     | 12 ± 2 a       |
| Meatball      | 40 ± 4 a     | 14 ± 2 a       |
| Roule         | 38 ± 5 a     | 4.6 ± 0.4 c    |
| Smoked breast | 32 ± 2 a     | 1.1 ± 0.1 d    |
| Smoked ham    | 43 ± 8 a     | 5.1 ± 0.8 c    |

\*Mean and standard deviation of 4 samples in duplicate.

\*\*Mean and standard deviation of 5 samples in duplicate.

Values in the same column with the same letter do not present significant differences ( $p>0.05$ ).

TABLE 4. Comparison between the values for total lipids found and those declared on the packages of the processed turkey meat products

| Processed turkey meat products | Values obtained* | Values declared on the packet |
|--------------------------------|------------------|-------------------------------|
| Blanquet                       | $5.3 \pm 0.4$    | 5                             |
| Frankfurter                    | $9.8 \pm 0.7$    | 11                            |
| Ham                            | $3.7 \pm 0.5$    | 4.5                           |
| Hamburger                      | $12 \pm 2$       | 10                            |
| Meatball                       | $14 \pm 2$       | 13                            |
| Roule                          | $4.6 \pm 0.4$    | 5                             |
| Smoked breast                  | $1.1 \pm 0.1$    | 1.5                           |
| Smoked ham                     | $5.1 \pm 0.8$    | 4.5                           |

\*Mean and standard deviation of 5 samples in duplicate.

TABLE 5. Cholesterol oxide ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) contents of the processed turkey meat products

| Samples*      | <u>7-ketocholesterol</u><br>M** | <u>5,6<math>\beta</math>-epoxycholesterol</u><br>M** | Total oxides |
|---------------|---------------------------------|------------------------------------------------------|--------------|
| Blanquet      |                                 |                                                      |              |
| 1             | 88                              | 186                                                  | 274          |
| 2             | 48                              | 170                                                  | 218          |
| 3             | 51                              | nd                                                   | 51           |
| 4             | nd                              | 119                                                  | 199          |
| Frankfurter   |                                 |                                                      |              |
| 1             | 113                             | nd                                                   | 113          |
| 2             | 184                             | 112                                                  | 296          |
| 3             | 71                              | 130                                                  | 201          |
| 4             | 70                              | 97                                                   | 167          |
| Ham           |                                 |                                                      |              |
| 1             | 112                             | nd                                                   | 112          |
| 2             | 62                              | 249                                                  | 311          |
| 3             | 31                              | 130                                                  | 161          |
| 4             | 44                              | 213                                                  | 257          |
| Hamburger     |                                 |                                                      |              |
| 1             | 82                              | nd                                                   | 82           |
| 2             | 173                             | 230                                                  | 403          |
| 3             | 35                              | nd                                                   | 35           |
| 4             | 32                              | 206                                                  | 238          |
| Meatball      |                                 |                                                      |              |
| 1             | 50                              | 339                                                  | 389          |
| 2             | 119                             | nd                                                   | 119          |
| 3             | 44                              | nd                                                   | 44           |
| 4             | 65                              | nd                                                   | 65           |
| Roule         |                                 |                                                      |              |
| 1             | 100                             | 140                                                  | 240          |
| 2             | 38                              | 242                                                  | 280          |
| 3             | nd                              | 450                                                  | 450          |
| 4             | 67                              | 192                                                  | 259          |
| Smoked breast |                                 |                                                      |              |
| 1             | nd                              | nd                                                   | nd           |
| 2             | nd                              | 181                                                  | 181          |
| 3             | 55                              | 87                                                   | 142          |
| 4             | 35                              | nd                                                   | 35           |
| Smoked ham    |                                 |                                                      |              |
| 1             | 140                             | 92                                                   | 232          |
| 2             | 47                              | 154                                                  | 201          |
| 3             | 34                              | 80                                                   | 114          |
| 4             | 66                              | 340                                                  | 406          |

\*Samples = four batches with different production dates. \*\*Mean of duplicate determinations, nd = not detected (detection limit  $\leq 9 \mu\text{g}/100\text{g}$  for 7-ketocholesterol and  $12 \mu\text{g}/100\text{g}$  for 5,6 $\beta$ epoxycholesterol)

TABLE 6. Fatty acid compositions (% area) of the processed turkey meat products

| Fatty acids               | Hamburger     | Frankfurter   | Smoked ham    | Ham           |
|---------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                           | M ± SD*       | M ± SD*       | M ± SD*       | M ± SD*       |
| C12:0                     | 0.1 ± 0.0 a   | tr b          | tr b          | nd            |
| C14:0                     | 0.7 ± 0.0 ab  | 0.7 ± 0.0 ab  | 0.7 ± 0.0 ab  | 0.7 ± 0.0 ab  |
| C15:0                     | 0.4 ± 0.0 c   | 0.4 ± 0.0 c   | 0.8 ± 0.1 bc  | 0.9 ± 0.0 b   |
| C16:0                     | 21.9 ± 0.8 ab | 22.8 ± 0.5 a  | 22.3 ± 0.4 a  | 22.6 ± 0.4 a  |
| C18:0                     | 6.5 ± 0.3 cd  | 6.9 ± 0.4 bcd | 7.6 ± 0.3 bc  | 8.5 ± 0.1 ab  |
| C20:0                     | 0.1 ± 0.0 b   | 0.1 ± 0.0 c   | 0.1 ± 0.0 c   | 0.1 ± 0.0 c   |
| C21:0                     | 0.1 ± 0.0 b   | 0.1 ± 0.0 ab  | nd            | 0.1 ± 0.0 b   |
| C16:1 $\omega$ 7          | 4.0 ± 0.1 c   | 5.7 ± 0.3 a   | 5.5 ± 0.3 ab  | 5.3 ± 0.2 abc |
| C18:1 $\omega$ 9 $t$      | 5.0 ± 0.0 a   | 0.2 ± 0.0 b   | 0.2 ± 0.0 b   | 0.3 ± 0.0 b   |
| C18:1 $\omega$ 9          | 40.2 ± 3.6 b  | 36.5 ± 0.5 cd | 34.0 ± 0.7 cd | 32.8 ± 0.4 de |
| C20:1 $\omega$ 11         | 0.1 ± 0.0 b   | 0.1 ± 0.0 b   | 0.2 ± 0.0 b   | nd            |
| C18:2 $\omega$ 6 $t^{**}$ | 0.6 ± 0.1 b   | nd            | nd            | nd            |
| C18:2 $\omega$ 6          | 19.0 ± 1.4 b  | 25.0 ± 0.3 a  | 26.0 ± 1.2 a  | 25.4 ± 0.2 a  |
| C18:3 $\omega$ 3          | 0.7 ± 0.2 b   | 1.1 ± 0.2 a   | 1.0 ± 0.0 a   | 1.1 ± 0.1 a   |
| C18:3 $\omega$ 6          | 0.1 ± 0.0 b   | 0.1 ± 0.0 ab  | 0.1 ± 0.0 ab  | 0.1 ± 0.0 ab  |
| C20:2 $\omega$ 6          | 0.1 ± 0.0 c   | 0.1 ± 0.0 bc  | 0.1 ± 0.0 b   | 0.1 ± 0.0 b   |
| C20:4 $\omega$ 6          | 0.5 ± 0.1 b   | 0.7 ± 0.1 b   | 1.6 ± 0.3 b   | 1.8 ± 0.0 ab  |
| C22:5 $\omega$ 3          | tr b          | tr b          | 0.1 ± 0.0 b   | 0.1 ± 0.0 b   |
| C22:5 $\omega$ 6          | 0.1 ± 0.0 bc  | tr b          | 0.1 ± 0.0 b   | 0.1 ± 0.0 b   |
| C22:6 $\omega$ 3          | nd            | tr b          | 0.1 ± 0.0 b   | 0.1 ± 0.0 b   |
| SFA                       | 35            | 31            | 32            | 33            |
| MUFA                      | 44            | 42            | 40            | 38            |
| PUFA                      | 20            | 27            | 29            | 29            |
| PUFA/SFA                  | 1.7           | 1.2           | 1.1           | 1.2           |
| Total $\omega$ 3          | 0.7           | 1.2           | 1.2           | 1.3           |
| Total $\omega$ 6          | 19.7          | 25.4          | 27.5          | 27.5          |
| $\omega$ 6/ $\omega$ 3    | 28.1          | 21.2          | 22.9          | 21.2          |

\* Mean and standard deviation of five samples in duplicate; \*\*18:2 $\omega$ 6 $t$  (9 $c$ , 12 $t$  + 9 $t$ , 12 $t$ ); SFA = saturated fatty acid, MUFA = monounsaturated fatty acid, PUFA = polyunsaturated fatty acid,  $t$  = *trans*, nd = not detected, tr < 0.1%; values in the same line with the same letter do not present significant differences at the 5% level.

TABLE 6 - Continued

| Fatty acids      | Roule         | Blanquet      | Meatball     | Smoked breast |
|------------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
|                  | M ± SD*       | M ± SD*       | M ± SD*      | M ± SD*       |
| C12:0            | tr b          | tr b          | 0.1 ± 0.0 a  | tr b          |
| C14:0            | 0.7 ± 0.1 a   | 0.6 ± 0.1 ab  | 0.5 ± 0.1 b  | 0.6 ± 0.0 ab  |
| C15:0            | 0.7 ± 0.1 bc  | 0.6 ± 0.0 bc  | 0.2 ± 0.0 c  | 2.6 ± 0.7 a   |
| C16:0            | 23.3 ± 0.6 a  | 23.6 ± 0.6 a  | 20.1 ± 1.1 b | 21.9 ± 1.1 ab |
| C18:0            | 7.7 ± 0.8 bc  | 6.9 ± 0.6 bcd | 6.1 ± 0.5 d  | 9.6 ± 1.1 a   |
| C20:0            | nd            | 0.1 ± 0.0 c   | 0.2 ± 0.0 a  | nd            |
| C21:0            | nd            | nd            | 0.1 ± 0.0 a  | nd            |
| C16:1ω7          | 5.2 ± 0.9 abc | 6.1 ± 0.4 a   | 2.4 ± 0.4 d  | 5.0 ± 0.6 bc  |
| C18:1ω9 $t$      | nd            | nd            | nd           | nd            |
| C18:1ω9          | 32.7 ± 4.4 de | 38.6 ± 2.5 c  | 52.8 ± 2.5 a | 28.1 ± 2.4 e  |
| C20:1ω11         | 0.2 ± 0.0 a   | 0.1 ± 0.0 c   | nd           | nd            |
| C18:2ω6 $t^{**}$ | nd            | tr c          | 1.4 ± 0.4 a  | nd            |
| C18:2ω6          | 26.6 ± 3.4 a  | 21.3 ± 1.8 b  | 14.8 ± 1.2 c | 26.4 ± 1.0 a  |
| C18:3ω3          | 1.2 ± 0.1 a   | 1.1 ± 0.1 a   | 0.7 ± 0.1 b  | 1.0 ± 0.1 a   |
| C18:3ω6          | 0.1 ± 0.0 ab  | 0.2 ± 0.0 a   | 0.1 ± 0.0 ab | 0.1 ± 0.0 b   |
| C20:2ω6          | 0.1 ± 0.0 bc  | 0.1 ± 0.0 b   | tr c         | 0.2 ± 0.0 a   |
| C20:4ω6          | 1.2 ± 0.4 b   | 0.6 ± 0.1 b   | 0.4 ± 0.0 b  | 3.7 ± 0.7 a   |
| C22:5ω3          | 0.1 ± 0.0 b   | tr b          | tr b         | 0.3 ± 0.0 a   |
| C22:5ω6          | 0.1 ± 0.0 bc  | tr bc         | tr c         | 0.3 ± 0.1 a   |
| C22:6ω3          | 0.1 ± 0.0 b   | tr c          | tr c         | 0.3 ± 0.0 a   |
| SFA              | 33            | 32            | 29           | 35            |
| MUFA             | 38            | 45            | 55           | 33            |
| PUFA             | 29            | 24            | 16           | 32            |
| PUFA/SFA         | 1.1           | 1.4           | 1.8          | 1.1           |
| Total ω3         | 1.3           | 1.2           | 0.7          | 1.7           |
| Total ω6         | 28.1          | 22.3          | 15.3         | 31            |
| ω6/ω3            | 21.6          | 18.6          | 21.9         | 18.2          |

\* Mean and standard deviation of five samples in duplicate; \*\*18:2ω6 $t$  (9 $c$ , 12 $t$  + 9 $t$ , 12 $t$ ); SFA = saturated fatty acid, MUFA = monounsaturated fatty acid, PUFA = polyunsaturated fatty acid,  $t$  = *trans*, nd = not detected, tr < 0.1%; values in the same line with the same letter do not present significant differences at the 5% level.

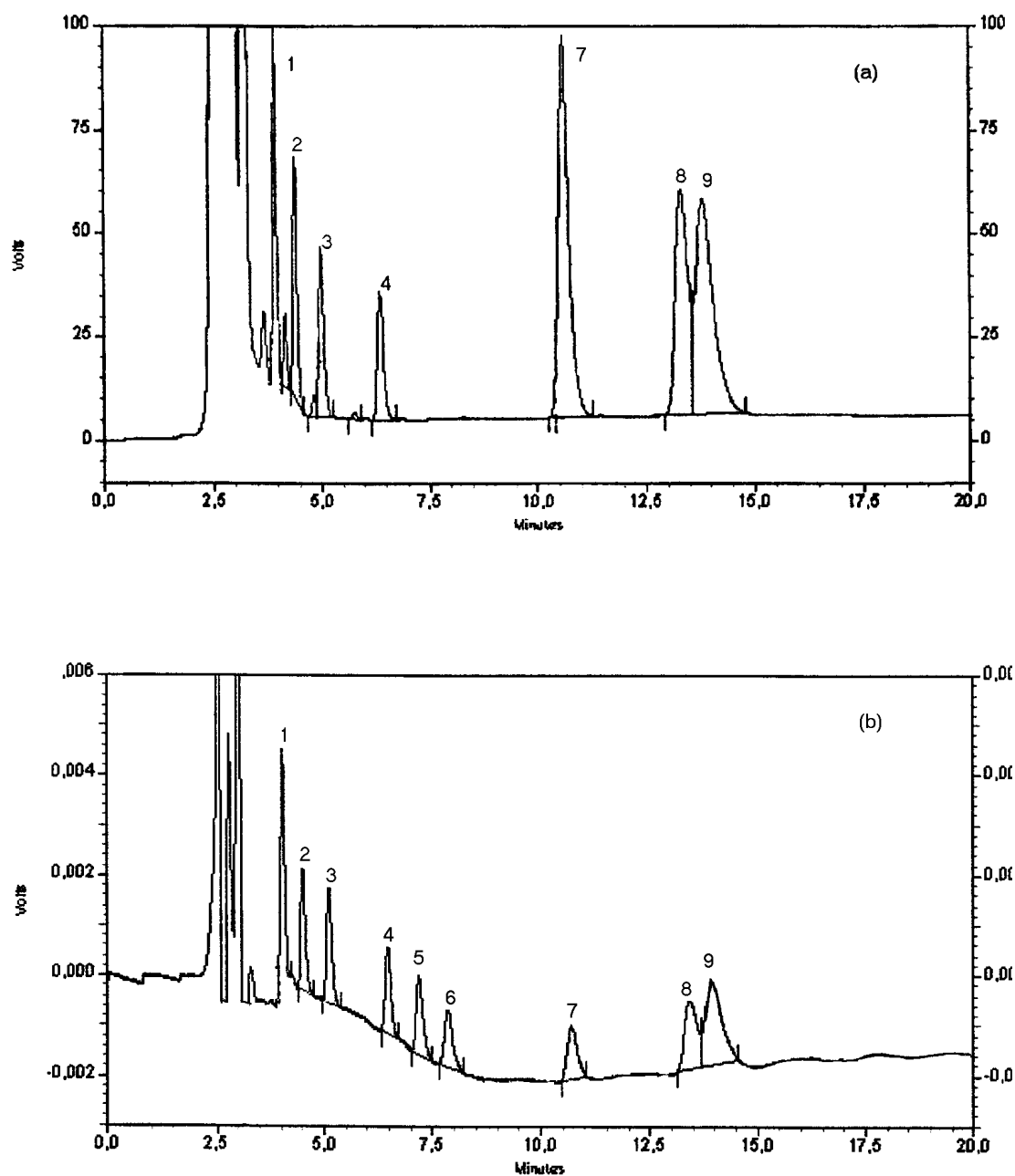


FIGURE 1. Typical HPLC chromatogram of the cholesterol and cholesterol oxide standards. Nova Pak CN column (4  $\mu$ m, 300 x 3.9 mm) with hexane/isopropanol (96+4) as mobile phase at 1 mL/min (a) photodiode array detector (b) refractive index detector. Cholesterol and cholesterol oxides numbered as in Table 2.

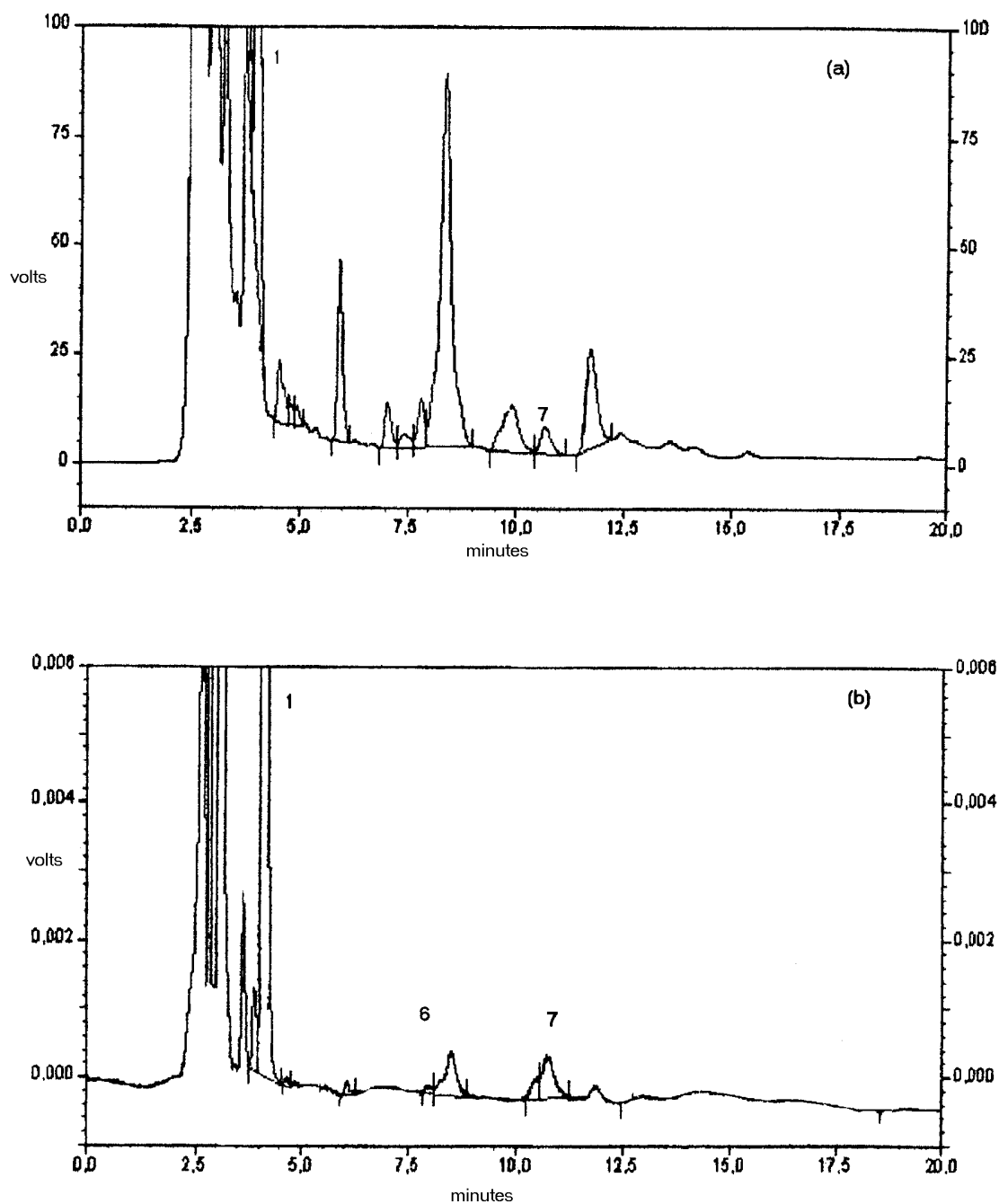


FIGURE 2. Typical HPLC chromatogram of the cholesterol and cholesterol oxides in the blank. Nova Pak CN column (4  $\mu\text{m}$ , 300 x 3.9 mm) with hexane/isopropanol (96+4) as mobile phase at 1 mL/min (a) photodiode array detector (b) refractive index detector. Cholesterol and cholesterol oxides numbered as in Table 2.

## **CAPÍTULO 4**

# **PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS BOVINOS, SUÍNOS E MISTOS: TEORES DE ÓXIDOS DE COLESTEROL, COLESTEROL, LIPÍDIOS TOTAIS E ÁCIDOS GRAXOS**



## RESUMO

O consumo elevado de colesterol, de gordura, de ácidos graxos saturados e de ácidos graxos isômeros *trans* está relacionado com as doenças cardíacas, as quais são responsáveis pelo maior número de mortes naturais no país. Os produtos da oxidação do colesterol são considerados mais prejudiciais que o próprio colesterol na formação de placas ateroscleróticas e estão associados a vários efeitos biológicos indesejáveis. A partir da mesma extração lipídica foram determinados os óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e a composição de ácidos graxos em produtos processados de carne bovina (almôndegas, hambúrguer e jerked beef), suína (lingüiça toscana, apresuntado tradicional e presunto tradicional) e mistos (salsichas “hot-dog”, mortadela tradicional e salame Italiano). A extração e a determinação do teor de lipídios foram realizadas de acordo com o método de FOLCH *et al.* (1957). O colesterol e os óxidos de colesterol foram determinados simultaneamente por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando detector por conjunto de diodos fixado a 210nm e índice de refração. A composição de ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa com coluna capilar CP-SIL 88 (50m x 0,25mm; 0,20µm de polietilenoglicol). O único óxido de colesterol encontrado foi o 7-cetocolesterol (µg/g), em uma amostra de hambúrguer (3,2), em duas amostras de salsichas “hot-dog” (1,6 e 2,0) e em uma amostra de mortadela (2,6). O teor de colesterol variou de 22 no apresuntado a 59mg/100g no salame. Os teores de lipídios totais obtidos no presente trabalho variaram de 2,8 no presunto a 25g/100g no salame. Os principais ácidos graxos identificados nos produtos cárneos processados foram: C18:1ω9, C16:0, C18:0, C18:2ω6, C16:1ω7 e C14:0. De acordo com os teores de lipídios totais obtidos, as amostras de salsichas “hot-dog” e de mortadela tradicional apresentaram maiores teores de ácidos graxos poliinsaturados.

---

## SUMMARY

A high consumption of cholesterol, fat, saturated fatty acids and trans isomer fatty acids is related to heart disease, which is responsible for the greatest number of natural deaths in the country. Cholesterol oxidation products are considered more prejudicial than cholesterol itself in the formation of arteriosclerotic plaque and are associated with various undesirable biological effects. Using the same lipid extract, cholesterol oxides, cholesterol, total lipids and the fatty acid composition were determined in processed beef products (meat balls, hamburger and jerked beef), processed pork products (toscana sausage, traditional spam and traditional ham) and mixed meat products (frankfurters, traditional mortadella and Italian salame). Extraction and determination of the lipid content were carried out using the methodology of FOLCH *et al.* (1957). Cholesterol and the cholesterol oxides were determined simultaneously by high performance liquid chromatography using a diode array detector at 210nm and a refractive index detector. The fatty acid composition was determined by gas chromatography using a CP-SIL 88 capillary column (50m x 0.25mm; 0.20µm polyethyleneglycol). The only cholesterol oxide found was 7-cetocholesterol (µg/g) in one sample of hamburger (3.2), two samples of frankfurter (1.6 and 2.0) and in one sample of mortadella (2.6). The cholesterol content varied from 22 in the spam to 59mg/100g in the salame. The total lipid contents varied from 2.8 in the ham to 25g/100g in the salame. The main fatty acids identified in the processed meat products were: C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:0, C18:2 $\omega$ 6, C16:1 $\omega$ 7 and C14:0. The frankfurter and mortadella showed highest polyunsaturated fatty acid content.

## 1 – INTRODUÇÃO

Os produtos cárneos processados são altamente consumidos pela população em geral. O aumento do mercado brasileiro destes produtos foi de 49% durante a última década (1991 a 2000), sendo os produtos charque (22%), mortadela (28%), salame (36%), apresuntado (46%), presunto (51%), lingüiça (52%) e salsichas (60%) os que apresentaram maior aumento (DATAMARK, 2001).

O colesterol encontra-se no alimento associado a outros lípidos e ácidos graxos. A extensão da oxidação do colesterol em alimentos depende da composição lipídica, principalmente do conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados (PANIANGVAIT, *et al.*, 1995). Os ácidos graxos poliinsaturados são muito susceptíveis à oxidação e são facilmente incorporados na reação em cadeia da peroxidação de lipídios originando radicais livres como os radicais peroxilas. Segundo SMITH (1987), os hidroperóxidos dos ácidos graxos poliinsaturados formados durante a oxidação lipídica podem ser necessários para iniciar a oxidação do colesterol e podem aumentar a oxidação do colesterol sinergicamente. OHSHIMA *et al.* (1993) relataram que o aumento contínuo da concentração de óxidos de colesterol foi acompanhado por um notável decréscimo de ácidos graxos poliinsaturados.

A oxidação do colesterol em alimentos processados merece uma considerável atenção devido à relevância toxicológica destes produtos. Há grande interesse e preocupação a respeito das implicações que os óxidos de colesterol podem causar à saúde humana. Vários estudos realizados em sistemas modelos celulares e com animais têm demonstrado o potencial destes componentes na produção de efeitos adversos à saúde humana (IMAI *et al.*, 1976; TAYLOR *et al.*, 1979). Os óxidos de colesterol são considerados mais prejudiciais que o próprio colesterol na formação de placas ateroscleróticas, bem como mutagênicos, carcinogênicos e citotóxicos (SEVANI & PETERSON, 1986; KUBOW, 1990; GUARDIOLA *et al.*, 1996).

Os óxidos de colesterol são um grupo de esteróis semelhante ao colesterol, os quais possuem um grupo funcional adicional, como hidroxila, cetona ou um grupo epóxido no núcleo esterol e/ou na cadeia lateral da molécula. Mais de oitenta óxidos de colesterol são conhecidos, no entanto, os óxidos de colesterol mais encontrados nos alimentos são: 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, colestano-3 $\beta$ -5 $\alpha$ -6 $\beta$ -triol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol e colestano-4,6-dien-3-ona (FINOCCHIARO & RICHARDSON, 1983; SANDER *et al.*, 1989). O 7-cetocolesterol tem sido utilizado como indicador da oxidação do colesterol por ser produzido nos estágios iniciais do processo oxidativo (PENAZZI, *et al.*, 1995; RODRIGUEZ-ESTRADA, *et al.*, 1997; ZUNIN, 1995; ZUNIN, *et al.*, 1997).

Alguns produtos cárneos processados, como almôndegas e hambúrguer, possuem gordura hidrogenada em sua composição, tornando-os uma fonte potencial de ácidos graxos *trans*. Os ácidos graxos *trans* são formados, além da hidrogenação industrial de óleos vegetais, pela ação de bactérias presentes no rúmen dos animais ruminantes (KEPLER *et al.*, 1966). Desta forma, são encontrados na carne e gordura do leite destes animais e em produtos que contêm gordura vegetal hidrogenada. Dietas contendo alta concentração de ácidos graxos *trans* são consideradas hipercolesterolêmicas e estão associadas com o desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares (ROBERTS, 1992).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo integrado sobre óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados bovinos, suínos e mistos.

---

## 2 – MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 – Material

Foram analisados três tipos de produtos processados de carne bovina (almôndegas, hambúrguer e jerked beef), três tipos de produtos processados de carne suína (lingüiça toscana, apresuntado tradicional e presunto tradicional) e três produtos cárneos processados de composição cárnea mista (salsichas “hot-dog”, mortadela tradicional e salame tipo Italiano). Estes últimos produtos foram chamados de mistos porque a composição cárnea dos mesmos é composta de carne bovina, suína e carne mecanicamente separada de aves, como é o caso das salsichas “hot-dog”, ou por carne bovina e suína como a mortadela tradicional e o salame tipo Italiano. A composição básica destes produtos cárneos encontra-se na Tabela 1.

Os prazos de validade destes produtos são de 60 dias para salsicha “hot-dog”, 90 dias para almôndegas, lingüiça toscana, apresuntado, presunto e mortadela e de 120 dias para hambúrguer, jerked beef e salame Italiano. As condições de armazenamento para lingüiça toscana, apresuntado, presunto, salsicha “hot-dog” e mortadela são em temperatura de refrigeração (até +8°C); as almôndegas e o hambúrguer são conservados congelados (-12°C a -18°C); os produtos jerked beef e salame Italiano são conservados em local seco, fresco e arejado.

Para cada um destes produtos foram analisadas cinco marcas diferentes, com exceção do jerked beef, que foram duas marcas. Para cada marca foram analisados três lotes com diferentes datas de validade. Cada lote foi composto por três unidades.

As amostras foram analisadas imediatamente após a aquisição das mesmas nos supermercados de Campinas. Os produtos processados foram integralmente triturados e homogeneizados em multiprocessador até obtenção de uma massa homogênea. Alíquotas de 50g foram tomadas para análises em duplicata.

Tabela 1. Composição básica dos produtos cárneos processados.

| Produtos           | Ingredientes                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Bovino</b>      |                                                                                                                                                                                                                          |
| Almôndegas         | Carne bovina, gordura hidrogenada, farinha de rosca, proteína vegetal, sal, condimentos naturais, glutamato monossódico e eritorbato de sódio.                                                                           |
| Hambúrguer         | Carne bovina, gordura hidrogenada, proteína vegetal, sal, condimentos naturais, glutamato monossódico e eritorbato de sódio.                                                                                             |
| Jerked beef        | Carne bovina, salmoura, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio.                                                                                                                                                |
| <b>Suíno</b>       |                                                                                                                                                                                                                          |
| Lingüiça Toscana   | Carne suína, toucinho, gordura suína, sal, proteína de soja, condimentos naturais, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio.                                                                                     |
| Apresuntado        | Carne suína (pernil/paleta), salmoura, amido, proteína de soja, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio.                                                                                                        |
| Presunto           | Pernil suíno, salmoura, glicose, nitrato e nitrito de sódio, aromas naturais e eritorbato de sódio.                                                                                                                      |
| <b>Mistos</b>      |                                                                                                                                                                                                                          |
| Salsicha “hot-dog” | Carne mecanicamente separada de aves, carne suína, carne bovina, pele suína/aves, toucinho, miúdos suínos, proteína vegetal, amido, sal, especiarias, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio.                  |
| Mortadela          | Carne bovina, carne suína e carne mecanicamente separada de suíno e ave, pele de suíno, toucinho, miúdos de suíno, proteína vegetal, amido, sal, condimentos naturais, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio. |
| Salame Italiano    | Carne suína, carne bovina, toucinho, leite em pó, sal, especiarias, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio.                                                                                                    |

## 2.2 – Métodos

A extração dos lipídios foi realizada como descrito por FOLCH *et al.* (1957).

Alíquotas do extrato lipídico foram tomadas para a determinação de lipídios totais, por pesagem após a evaporação do solvente; óxidos de colesterol e colesterol, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); e, a composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa. Os três métodos estão sumariamente descritos na Figura 1.

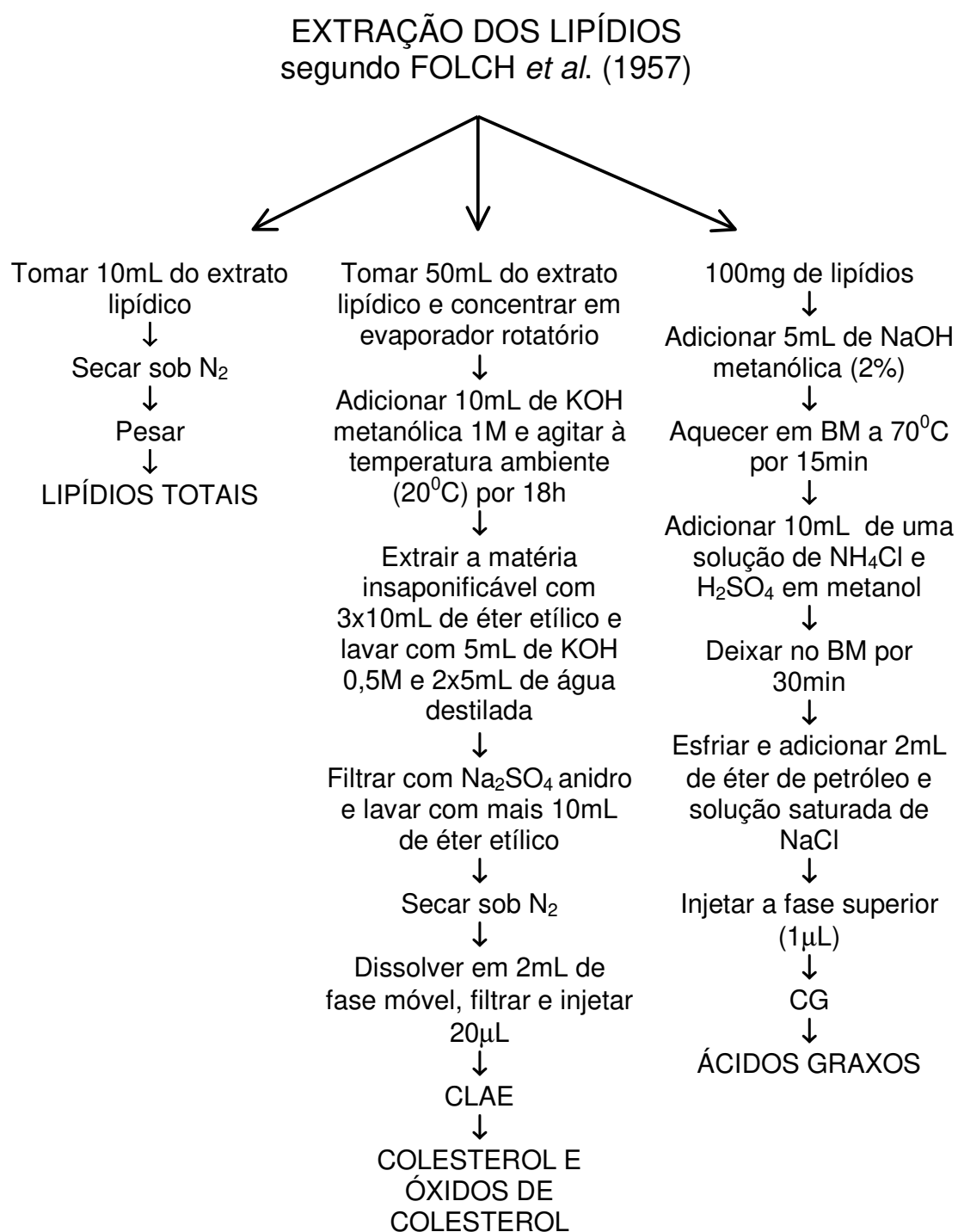


Figura 1. Fluxograma para determinação de lipídios totais, colesterol, óxidos de colesterol e ácidos graxos.



### 2.2.1 – Determinação simultânea de óxidos de colesterol e colesterol

Alíquotas do extrato lipídico foram secas em evaporador rotatório, saponificadas a frio e a matéria insaponificável foi extraída com éter etílico (SANDER *et al.*, 1989).

Utilizou-se um cromatógrafo líquido (Shimadzu) com sistema quaternário de solventes (LC-10ATVP); válvula "Rheodyne" com alça de amostragem de 20µL; forno de coluna (CTO-10ASVP); coluna de guarda Hypersil BDS CN (7,5 x 4,6mm, 5µm); coluna Nova Pak CN HP (300 x 3,9mm, 4µm); temperatura da coluna de 32°C; fase móvel composta de hexano/isopropanol (96+4) com vazão de 1,0mL/min; detector por conjunto de diodos (SPD-M10AVP); detector por índice de refração (RID-10A) e software (CLASS-VP). Os espectros de absorbância foram tirados entre 200 e 400nm e os cromatogramas foram registrados a 210nm.

O colesterol e os óxidos de colesterol: colest-4,6-dien-3-ona, 20α-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 5,6α-epoxicolesterol, 5,6β-epoxicolesterol, e 7β-hidroxicolesterol foram adquiridos da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). O 7α-hidroxicolesterol foi obtido da Steraloids Inc. (Wilton, EUA).

Todos os solventes usados para a extração e preparo da amostra foram de grau analítico e para análise cromatográfica de grau cromatográfico, os quais foram filtrados em filtro Millipore (0,45µm) e degaseificados em ultra-som antes do uso.

A identificação dos picos do colesterol e dos óxidos de colesterol foi feita por comparação dos tempos de retenção do padrão e o da amostra, por co-cromatografia e espectros de absorbância.

A confirmação da identidade foi realizada por cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-MS), usando um CG modelo HP 6890 acoplado a um MS HP 5973. A temperatura de interface foi de 320°C e a energia de impacto de elétrons foi de 70eV. Injetor splitless a 290°C, coluna capilar de sílica fundida

HP-5MS (30m x 0,25mm; espessura do filme 0,25 $\mu$ m) com temperatura programada: temperatura inicial 110 $^{\circ}$ C/2min, elevou-se para 235 $^{\circ}$ C numa razão de 40 $^{\circ}$ C/min, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos, após elevou-se a temperatura a 310 $^{\circ}$ C/5min numa razão de 1 $^{\circ}$ C/min. A vazão do gás de arraste (hélio) foi de 0,7mL/min. Os padrões de colesterol e de óxidos de colesterol e as amostras foram derivatizados de acordo com o método de SCHMARR *et al.* (1996).

A quantificação do colesterol e de seus produtos da oxidação foi feita por padronização externa. O colesterol foi quantificado pelo detector por índice de refração, por estar mais separado dos interferentes. O 7-cetocolesterol foi quantificado pelo detector por conjunto de diodos.

### 2.2.2 – Determinação da composição de ácidos graxos

Para a análise dos ácidos graxos, uma alíquota do extrato lipídico contendo aproximadamente 100mg de lipídios, foi seca em evaporador rotatório. A transmetilação foi realizada de acordo com o método de HARTMAN & LAGO (1973), usando solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol como agente esterificante.

A cromatografia gasosa, para a análise de ácidos graxos, foi realizada em cromatógrafo KONIK, modelo HRCG 4000A, equipado com: injetor split, razão 75:1; coluna capilar CP-SIL 88, 50m de comprimento x 0,25mm de diâmetro interno e contendo 0,20 $\mu$ m de polietilenoglicol; detector por ionização em chama e uma workstation com software BORWIN. As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna programada, temperatura inicial 180 $^{\circ}$ C/2min, elevando-se para 225 $^{\circ}$ C numa escala de 5 $^{\circ}$ C/min, permanecendo nesta temperatura por 15 minutos; gás de arraste, hidrogênio numa vazão de 0,5mL/min; gás “make-up”, nitrogênio a 30mL/min; temperatura do injetor, 270 $^{\circ}$ C; e temperatura do detector, 300 $^{\circ}$ C.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras e padrões e co-cromatografia. Foram utilizados no total 36 padrões de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). A quantificação foi realizada por normalização de área e os resultados foram expressos em porcentagem de área.

### **2.2.3 – Análise estatística**

Para verificar as diferenças entre os produtos cárneos processados, os resultados obtidos para colesterol, lipídios totais e ácidos graxos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a nível de 5%.

## **3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 – Produtos processados de carne bovina**

Na Tabela 2 estão apresentados os teores de colesterol e de lipídios totais nas amostras de almôndegas, hambúrguer e jerked beef.

Os teores de colesterol e de lipídios totais foram significativamente diferentes entre as marcas de almôndegas, variando de 23,6 a 33,7mg/100g e de 9,8 a 19,5g/100g, respectivamente.

Nas amostras de hambúrguer o teor de colesterol variou de 17,7 a 37,7mg/100g e o de lipídios totais de 10,9 a 16,5g/100g, não havendo diferença significativa entre duas marcas.

Para as amostras de jerked beef não houve diferença significativa para os teores de colesterol entre as duas marcas analisadas. Já o teor de lipídios totais foi significativamente diferente, variando de 3,5 a 6,6g/100g.

Tabela 2. Teores de colesterol (mg/100g de amostra) e lipídios totais (g/100g) em produtos processados de carne bovina.

| Amostras           | Colesterol                    | Lipídios Totais                |
|--------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                    | M $\pm$ DP*                   | M $\pm$ DP*                    |
| <b>Almôndegas</b>  |                               |                                |
| Marca 1            | 23,6 $\pm$ 2,4 e <sup>g</sup> | 10,1 $\pm$ 1,3 d <sup>de</sup> |
| Marca 2            | 29,0 $\pm$ 1,7 c <sup>e</sup> | 11,1 $\pm$ 1,4 c <sup>cd</sup> |
| Marca 3            | 25,7 $\pm$ 0,4 d <sup>f</sup> | 9,8 $\pm$ 0,8 e <sup>de</sup>  |
| Marca 4            | 33,7 $\pm$ 4,6 a <sup>c</sup> | 19,5 $\pm$ 1,5 a <sup>a</sup>  |
| Marca 5            | 30,9 $\pm$ 4,0 b <sup>d</sup> | 14,2 $\pm$ 2,2 b <sup>bc</sup> |
| <b>Hambúrguer</b>  |                               |                                |
| Marca 1            | 17,7 $\pm$ 3,1 d <sup>h</sup> | 16,5 $\pm$ 0,6 a <sup>b</sup>  |
| Marca 2            | 30,4 $\pm$ 1,3 b <sup>d</sup> | 13,7 $\pm$ 1,6 c <sup>c</sup>  |
| Marca 3            | 30,0 $\pm$ 0,5 b <sup>d</sup> | 10,9 $\pm$ 1,6 d <sup>d</sup>  |
| Marca 4            | 37,7 $\pm$ 3,7 a <sup>b</sup> | 14,6 $\pm$ 0,0 b <sup>bc</sup> |
| Marca 5            | 27,1 $\pm$ 8,7 c <sup>e</sup> | 14,4 $\pm$ 2,2 b <sup>bc</sup> |
| <b>Jerked beef</b> |                               |                                |
| Marca 1            | 42,5 $\pm$ 4,5 a <sup>a</sup> | 6,6 $\pm$ 3,6 a <sup>e</sup>   |
| Marca 2            | 42,7 $\pm$ 3,6 a <sup>a</sup> | 3,5 $\pm$ 0,9 b <sup>f</sup>   |

\*Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata. Valores na mesma coluna com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para as marcas. Valores na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para os produtos processados de carne bovina.

Dentre os produtos processados de carne bovina analisados, o teor de colesterol foi significativamente menor no hambúrguer (17,7mg/100g) e maior no jerked beef (42,7mg/100g), enquanto o conteúdo de lipídios totais foi menor no jerked beef (3,5g/100g) e maior nas almôndegas (19,5g/100g).

As variações entre os lotes das amostras analisados podem ser observadas através dos valores altos das estimativas dos desvios-padrão.

A Tabela 3 relaciona os ácidos graxos (% de área) encontrados nos produtos processados de carne bovina. Os principais ácidos graxos encontrados foram: C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:0, C18:2 $\omega$ 6, C16:1 $\omega$ 7 e C14:0.

Considerando os teores de lipídios totais das amostras analisadas, os ácidos graxos C16:0, C18:0 e C18:1 $\omega$ 9 foram encontrados em maiores teores nas amostras de hambúrguer. As amostras de almôndegas apresentaram teores maiores para o C18:2 $\omega$ 6 e as de jerked beef teores menores para os principais ácidos graxos encontrados.

Em relação aos ácidos graxos minoritários, os ácidos graxos C21:0 e C22:0 não foram detectados nas amostras de almôndegas. Nas amostras de jerked beef o C21:0 e o C18:3 $\omega$ 6 estiveram ausentes.

As concentrações de ácidos graxos saturados e monoinsaturados no jerked beef, almôndegas e hambúrguer foram cerca de 2,6 e 2,3; 5,8 e 5,3; 6,6 e 5,9g/100g de amostra, respectivamente. O teor de ácidos graxos poliinsaturados foi menor nas amostras de jerked beef (0,2g/100g de amostra) e maior nas amostras de almôndegas (1,8g/100g de amostra).

O único ácido graxo  $\omega$ 3 encontrado nas amostras de produtos processados de carne bovina analisadas foi o C18:3 $\omega$ 3, variando de 2mg/100g de amostra no jerked beef a 9mg/100g de amostra nas almôndegas.

A razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e saturados, encontrada no presente trabalho, foi menor nas amostras de jerked beef (0,08) e maior nas amostras de almôndegas (0,31). A razão  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 foi menor nas amostras de jerked beef (6,8) e maior nas amostras de hambúrguer (20,8).

Os ácidos graxos isômeros *trans* C18:1 $\omega$ 9 e C18:2 $\omega$ 6 (9*c*, 12*t*, 9*t*, 12*c*) foram detectados nas amostras analisadas. Os teores de C18:1 $\omega$ 9*t* variaram de 0,1g/100g de produto no jerked beef a 0,4g/100g de produto no hambúrguer. O maior teor de C18:2 $\omega$ 6*t* (9*c*, 12*t*, 9*t*, 12*c*) foi encontrado nas amostras de almôndegas (0,09g/100g de produto) e o menor teor nas amostras de jerked beef (0,01g/100g de produto).

Tabela 3. Composição de ácidos graxos (% de área) em produtos processados de carne bovina.

| Ácidos Graxos                 | Almôndegas<br>M ± DP* | Hambúrguer<br>M ± DP* | Jerked beef<br>M ± DP* |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| C14:0                         | 2,2 ± 0,5 a           | 2,5 ± 0,4 a           | 2,9 ± 0,0 a            |
| C15:0                         | 1,1 ± 0,2 b           | 1,1 ± 0,2 b           | 2,2 ± 0,1 a            |
| C16:0                         | 24,6 ± 1,7 a          | 24,0 ± 1,4 a          | 24,6 ± 0,0 a           |
| C17:0                         | 1,0 ± 0,2 a           | 1,1 ± 0,2 a           | 1,4 ± 0,1 a            |
| C18:0                         | 12,6 ± 6,9 a          | 14,3 ± 1,8 a          | 17,4 ± 0,1 a           |
| C20:0                         | 0,2 ± 0,0 a           | 0,2 ± 0,0 b           | 0,2 ± 0,0 a            |
| C21:0                         | nd                    | 0,3 ± 0,1             | nd                     |
| C22:0                         | nd                    | 0,1 ± 0,0 b           | 0,2 ± 0,0 a            |
| C16:1ω7                       | 3,7 ± 0,7 b           | 3,6 ± 0,3 b           | 4,4 ± 0,0 a            |
| C17:1ω7                       | 0,5 ± 0,1 b           | 0,5 ± 0,1 b           | 1,0 ± 0,0 a            |
| C18:1ω9t                      | 2,5 ± 1,9 a           | 2,7 ± 2,3 a           | 2,4 ± 0,1 a            |
| C18:1ω9                       | 36,2 ± 2,7 a          | 37,3 ± 1,0 a          | 38,6 ± 0,3 a           |
| C20:1ω11                      | 0,5 ± 0,2 b           | 0,3 ± 0,1 b           | 0,7 ± 0,0 a            |
| C18:2ω6t**                    | 0,7 ± 0,3 a           | 0,3 ± 0,1 b           | 0,2 ± 0,0 b            |
| C18:2ω6                       | 13,3 ± 5,1 a          | 10,1 ± 1,4 a          | 2,6 ± 0,4 b            |
| C18:3ω6                       | 0,1 ± 0,0 a           | 0,1 ± 0,0 a           | nd                     |
| C18:3ω3                       | 0,7 ± 0,3 a           | 0,5 ± 0,1 a           | 0,5 ± 0,1 a            |
| C20:4ω6                       | 0,2 ± 0,0 b           | 0,2 ± 0,0 b           | 0,8 ± 0,2 a            |
| Saturados                     | 45 a                  | 47 a                  | 51 a                   |
| Monoinsaturados               | 41 a                  | 42 a                  | 45 a                   |
| Poliinsaturados               | 14 a                  | 11 b                  | 4 c                    |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,31                  | 0,23                  | 0,08                   |
| Total ω3                      | 0,7                   | 0,5                   | 0,5                    |
| Total ω6                      | 13,5                  | 10,4                  | 3,4                    |
| ω6/ω3                         | 19,3                  | 20,8                  | 6,8                    |

\* Média e desvio padrão de 30 amostras (5 marcas, 3 lotes analisados em duplicata). \*\* (9c, 12t + 9t, 12c); nd = não detectado; Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

### 3.2 – Produtos processados de carne suína

Os teores de colesterol e de lipídios totais obtidos nas amostras de lingüiça toscana, apresuntado e presunto estão expressos na Tabela 4.

Os teores de colesterol nas amostras de lingüiça variaram de 27,4 a 36,7mg/100g, não havendo diferença significativa entre duas marcas. Os teores de lipídios totais variaram significativamente entre as marcas de lingüiça, variando de 13,4 a 29,0g/100g. Teores maiores de colesterol e de lipídios totais foram encontrados na Tabela da USDA (2003), sendo 68mg/100g e 40,29g/100g, respectivamente.

Nas amostras de apresuntado o teor de colesterol variou de 17,3 a 26,2mg/100g, não havendo diferença significativa entre duas marcas. O teor de lipídios totais nas amostras de apresuntado variou de 3,9 a 8,0g/100g, sendo duas marcas com valores maiores e três com valores menores.

Os teores de colesterol obtidos nas amostras de presunto não diferenciaram significativamente entre as marcas, variando de 23,0 a 26,2mg/100g. Os teores de lipídios totais variaram de 2,1 a 3,7g/100g, não havendo diferença significativa entre as marcas 1 e 3 e entre 4 e 5. Teores maiores de colesterol e de lipídios totais foram encontrados na Tabela da USDA (2003), sendo, respectivamente, 47mg/100g e 4,96g/100g.

Em geral, as amostras de lingüiça apresentaram maior teor de colesterol e lipídios totais e as amostras de apresuntado os menores teores de colesterol e as de presunto os de lipídios totais.

Tabela 4. Teores de colesterol (mg/100g de amostra) e lipídios totais (g/100g) em produtos processados de carne suína.

| Amostras           | Colesterol                    | Lipídios Totais               |
|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                    | M $\pm$ DP*                   | M $\pm$ DP*                   |
| <b>Lingüiça</b>    |                               |                               |
| Marca 1            | 27,4 $\pm$ 3,3 d <sup>c</sup> | 18,5 $\pm$ 5,3 d <sup>d</sup> |
| Marca 2            | 35,8 $\pm$ 5,3 a <sup>a</sup> | 21,5 $\pm$ 4,3 c <sup>c</sup> |
| Marca 3            | 36,7 $\pm$ 0,3 a <sup>a</sup> | 25,9 $\pm$ 3,0 b <sup>b</sup> |
| Marca 4            | 33,6 $\pm$ 1,6 b <sup>b</sup> | 13,4 $\pm$ 1,8 e <sup>e</sup> |
| Marca 5            | 28,7 $\pm$ 3,0 c <sup>c</sup> | 29,0 $\pm$ 3,9 a <sup>a</sup> |
| <b>Apresuntado</b> |                               |                               |
| Marca 1            | 22,8 $\pm$ 1,6 b <sup>f</sup> | 4,5 $\pm$ 1,3 b <sup>h</sup>  |
| Marca 2            | 22,0 $\pm$ 6,4 b <sup>f</sup> | 8,0 $\pm$ 0,5 a <sup>f</sup>  |
| Marca 3            | 20,3 $\pm$ 4,9 b <sup>g</sup> | 3,9 $\pm$ 0,6 b <sup>h</sup>  |
| Marca 4            | 17,3 $\pm$ 4,1 c <sup>h</sup> | 4,2 $\pm$ 0,2 b <sup>h</sup>  |
| Marca 5            | 26,2 $\pm$ 2,3 a <sup>d</sup> | 7,4 $\pm$ 1,1 a <sup>g</sup>  |
| <b>Presunto</b>    |                               |                               |
| Marca 1            | 26,1 $\pm$ 3,0 a <sup>d</sup> | 3,0 $\pm$ 0,4 b <sup>hi</sup> |
| Marca 2            | 25,0 $\pm$ 1,3 a <sup>e</sup> | 3,7 $\pm$ 1,0 a <sup>h</sup>  |
| Marca 3            | 23,2 $\pm$ 2,1 a <sup>f</sup> | 2,7 $\pm$ 0,8 b <sup>i</sup>  |
| Marca 4            | 23,0 $\pm$ 2,0 a <sup>f</sup> | 2,1 $\pm$ 0,2 c <sup>i</sup>  |
| Marca 5            | 26,2 $\pm$ 2,7 a <sup>d</sup> | 2,3 $\pm$ 0,2 c <sup>i</sup>  |

\*Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata. Valores na mesma coluna com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para as marcas. Valores na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para os produtos processados de carne suína.



A Tabela 5 relaciona os ácidos graxos (% de área) obtidos nos produtos processados de carne suína.

Em relação aos teores de lipídios totais das amostras analisadas, as amostras de lingüiça toscana apresentaram teores maiores para os principais ácidos graxos encontrados (C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:0, C16:1 $\omega$ 7 e C14:0) e as amostras de presunto valores menores.

Teores maiores de ácidos graxos saturados (8,8g/100g de amostra), monoinsaturados (10,1g/100g de amostra) e poliinsaturados (3,1g/100g de amostra) foram encontrados nas amostras de lingüiça toscana. Estes valores foram menores para as amostras de presunto, sendo, respectivamente, 1,1; 1,4 e 0,5g/100g de amostra.

Os teores de ácidos graxos  $\omega$ 3 variaram de 0,02 no presunto a 0,1g/100g de amostra na lingüiça toscana. A razão  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 foi semelhante entre as amostras.

Com relação aos ácidos graxos minoritários, o ácido graxo C18:3 $\omega$ 6 não foi detectado nas amostras de lingüiça.

A razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e saturados foi a mesma nas amostras de lingüiça toscana e de presunto (0,4) e maior no apresuntado (0,5).

Apenas o ácido graxo isômero *trans* C18:1 $\omega$ 9 foi encontrado nas amostras analisadas de produtos processados de carne suína, variando de 6 no presunto a 40mg/100g de amostra na lingüiça toscana.

Tabela 5. Composição de ácidos graxos (% de área) em produtos processados de carne suína.

| Ácidos Graxos                 | Lingüiça Toscana | Apresuntado  | Presunto     |
|-------------------------------|------------------|--------------|--------------|
|                               | M ± DP*          | M ± DP*      | M ± DP*      |
| C14:0                         | 1,5 ± 0,1 a      | 1,3 ± 0,1 b  | 1,3 ± 0,1 b  |
| C15:0                         | 0,2 ± 0,0 c      | 0,4 ± 0,0 b  | 0,8 ± 0,2 a  |
| C16:0                         | 25,5 ± 0,7 a     | 23,9 ± 0,2 a | 24,4 ± 0,5 a |
| C17:0                         | 0,4 ± 0,0 a      | 0,4 ± 0,1 a  | 0,4 ± 0,1 a  |
| C18:0                         | 11,8 ± 0,3 a     | 10,8 ± 0,4 a | 10,7 ± 0,3 a |
| C20:0                         | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C24:0                         | 0,1 ± 0,0 b      | 0,2 ± 0,0 b  | 0,3 ± 0,0 a  |
| C16:1ω7                       | 2,5 ± 0,3 a      | 2,8 ± 0,2 a  | 2,9 ± 0,2 a  |
| C17:1ω7                       | 0,5 ± 0,1 a      | 0,4 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,1 a  |
| C18:1ω9t                      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,1 a  |
| C18:1ω9                       | 42,1 ± 0,7 a     | 42,3 ± 1,6 a | 42,8 ± 1,2 a |
| C20:1ω11                      | 0,7 ± 0,0 a      | 0,7 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,1 a  |
| C18:2ω6                       | 13,2 ± 1,1 a     | 14,7 ± 2,0 a | 12,9 ± 1,0 a |
| C18:3ω6                       | nd               | 0,5 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,1 a  |
| C18:3ω3                       | 0,5 ± 0,1 a      | 0,6 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,1 a  |
| C20:2ω6                       | 0,5 ± 0,1 a      | 0,5 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,1 a  |
| C20:4ω6                       | 0,4 ± 0,1 c      | 0,7 ± 0,2 b  | 1,2 ± 0,2 a  |
| Saturados                     | 40 a             | 37 b         | 38 b         |
| Monoinsaturados               | 46 a             | 46 a         | 47 a         |
| Poliinsaturados               | 14 a             | 17 a         | 15 a         |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,4              | 0,5          | 0,4          |
| Total ω3                      | 0,5              | 0,6          | 0,5          |
| Total ω6                      | 14               | 16           | 15           |
| ω6/ω3                         | 28               | 27           | 30           |

\*Média e desvio padrão de 30 amostras (5 marcas, 3 lotes analisados em duplicata).

nd = não detectado

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

### 3.3 – Produtos cárneos processados mistos

Os teores de colesterol e lipídios totais obtidos nas amostras de salsichas “hot-dog”, mortadela e salame Italiano encontram-se na Tabela 6.

Os teores de colesterol nas amostras de salsichas variaram de 44,3 a 71,1mg/100g, não apresentando diferença significativa entre quatro marcas. Os teores de lipídios totais variaram de 15,0 a 24,9g/100g, sendo que duas marcas de salsichas não diferenciaram significativamente entre si. Teor semelhante de colesterol e teor maior de lipídios totais foram encontrados na Tabela da USDA (2003), sendo 50mg/100g e 27,64g/100g, respectivamente.

Os teores de colesterol e lipídios totais nas amostras de mortadela não apresentaram diferença significativa entre quatro marcas, variando de 39,4 a 49,8mg/100g e de 18,5 a 23,6g/100g, respectivamente. Valores maiores de colesterol e de lipídios totais foram encontrados na Tabela da USDA (2003), sendo 56mg/100g e 25,39g/100g, respectivamente.

Nas amostras de salame os teores de colesterol variaram de 52,4 a 65,5mg/100g, não havendo diferença significativa entre as marcas 1 e 3 e entre 2, 4 e 5. Os teores de lipídios totais variaram de 22,5 a 27,8g/100g, duas marcas não apresentaram diferença significativa entre si. Teor maior de colesterol e teor semelhante de lipídios totais foram encontrados na Tabela da USDA (2003), sendo 89mg/100g e 26,40g/100g, respectivamente.

Em geral, os teores de colesterol foram maiores no salame tipo Italiano e menores na mortadela. As amostras de salsichas apresentaram teores de lipídios totais menores, enquanto que as de salame apresentaram valores maiores.

Tabela 6. Teores de colesterol (mg/100g) e lipídios totais (g/100g) em produtos cárneos processados mistos.

| Amostras         | Colesterol                      | Lipídios Totais                |
|------------------|---------------------------------|--------------------------------|
|                  | M $\pm$ DP*                     | M $\pm$ DP*                    |
| <b>Salsicha</b>  |                                 |                                |
| Marca 1          | 46,0 $\pm$ 11,1 b <sup>cd</sup> | 15,0 $\pm$ 0,5 d <sup>f</sup>  |
| Marca 2          | 46,0 $\pm$ 5,6 b <sup>cd</sup>  | 24,9 $\pm$ 0,6 a <sup>ab</sup> |
| Marca 3          | 71,1 $\pm$ 5,8 a <sup>a</sup>   | 16,8 $\pm$ 0,7 c <sup>e</sup>  |
| Marca 4          | 51,6 $\pm$ 1,7 b <sup>bc</sup>  | 18,1 $\pm$ 0,3 b <sup>d</sup>  |
| Marca 5          | 44,3 $\pm$ 8,0 b <sup>cd</sup>  | 16,6 $\pm$ 0,5 c <sup>e</sup>  |
| <b>Mortadela</b> |                                 |                                |
| Marca 1          | 42,1 $\pm$ 6,8 b <sup>cd</sup>  | 18,5 $\pm$ 1,5 b <sup>d</sup>  |
| Marca 2          | 41,1 $\pm$ 5,5 b <sup>d</sup>   | 23,1 $\pm$ 1,5 a <sup>c</sup>  |
| Marca 3          | 49,8 $\pm$ 0,5 a <sup>c</sup>   | 22,9 $\pm$ 2,2 a <sup>c</sup>  |
| Marca 4          | 39,4 $\pm$ 1,6 b <sup>e</sup>   | 23,6 $\pm$ 1,1 a <sup>c</sup>  |
| Marca 5          | 42,0 $\pm$ 3,8 b <sup>cd</sup>  | 21,2 $\pm$ 0,1 a <sup>cd</sup> |
| <b>Salame</b>    |                                 |                                |
| Marca 1          | 52,4 $\pm$ 2,5 b <sup>bc</sup>  | 27,5 $\pm$ 1,8 a <sup>a</sup>  |
| Marca 2          | 65,5 $\pm$ 4,4 a <sup>a</sup>   | 23,5 $\pm$ 0,6 c <sup>c</sup>  |
| Marca 3          | 53,0 $\pm$ 5,3 b <sup>bc</sup>  | 22,5 $\pm$ 4,8 d <sup>c</sup>  |
| Marca 4          | 60,8 $\pm$ 6,7 a <sup>b</sup>   | 27,8 $\pm$ 0,7 a <sup>a</sup>  |
| Marca 5          | 64,2 $\pm$ 2,1 a <sup>ab</sup>  | 24,2 $\pm$ 1,7 b <sup>b</sup>  |

\*Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata. Valores na mesma coluna com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para as marcas. Valores na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para os produtos cárneos processados mistos.

A Tabela 7 relaciona os ácidos graxos (% de área) encontrados nos produtos cárneos processados mistos.

Os principais ácidos graxos encontrados nas amostras de salsichas “hot-dog”, mortadela tradicional e salame tipo Italiano foram: C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:0 e C16:1 $\omega$ 7. Considerando os teores de lipídios totais das amostras analisadas, as amostras de salame Italiano apresentaram maiores teores para os ácidos graxos C16:0, C18:0 e C18:1 $\omega$ 9, enquanto que os ácidos graxos C16:1 $\omega$ 7 e C18:2 $\omega$ 6 tiveram maiores valores nas amostras de mortadela.

As concentrações de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, variaram, respectivamente, de 5,9 e 7,7 na salsicha “hot-dog” a 9,7 e 11,5g/100g de amostra no salame Italiano. Os teores de ácidos graxos poliinsaturados foram semelhantes entre as amostras de salsicha “hot-dog” (4,3g/100g de amostra) e de mortadela (4,4g/100g de amostra) e menores nas amostras de salame Italiano (3,7g/100g de amostra).

As amostras de salsicha “hot-dog” e mortadela apresentaram teores de ácidos graxos  $\omega$ 3 ao redor de 0,2g/100g de amostra e o salame Italiano de 0,1g/100g de amostra.

A razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e saturados foi menor nas amostras de salame Italiano (0,38) e maior nas amostras de salsicha “hot-dog” (0,73). A razão de  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 apresentou menor valor nas amostras de salsicha (17,8) e valor maior nas amostras de salame (30,0).

Somente o ácido graxo isômero *trans* C18:1 $\omega$ 9 foi encontrado nos produtos cárneos processados mistos analisados, apresentando teores semelhantes nas amostras de salsicha e de mortadela (0,04g/100g de amostra) e maiores nas amostras de salame Italiano (0,1g/100g de amostra).

Tabela 7. Composição de ácidos graxos (% de área) em produtos cárneos processados mistos.

| Ácidos Graxos                 | Salsicha “hot-dog” | Mortadela    | Salame Italiano |
|-------------------------------|--------------------|--------------|-----------------|
|                               | M ± DP*            | M ± DP*      | M ± DP*         |
| C14:0                         | 0,7 ± 0,1 c        | 1,0 ± 0,1 b  | 1,5 ± 0,1 a     |
| C15:0                         | 0,3 ± 0,0 a        | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,1 a     |
| C16:0                         | 24,2 ± 0,8 a       | 24,3 ± 0,8 a | 24,6 ± 1,1 a    |
| C17:0                         | 0,3 ± 0,1 b        | 0,3 ± 0,0 b  | 0,5 ± 0,0 a     |
| C18:0                         | 7,2 ± 1,5 c        | 9,3 ± 0,7 b  | 11,7 ± 0,9 a    |
| C20:0                         | 0,3 ± 0,1 a        | 0,1 ± 0,0 b  | 0,4 ± 0,0 a     |
| C24:0                         | 0,2 ± 0,1 a        | 0,2 ± 0,1 a  | 0,1 ± 0,0 a     |
| C16:1ω7                       | 4,7 ± 1,0 a        | 3,5 ± 0,4 b  | 2,6 ± 0,3 b     |
| C17:1ω7                       | 0,3 ± 0,0 b        | 0,3 ± 0,0 b  | 0,4 ± 0,1 a     |
| C18:1ω9t                      | 0,2 ± 0,0 b        | 0,2 ± 0,0 b  | 0,4 ± 0,1 a     |
| C18:1ω9                       | 37,2 ± 2,3 a       | 40,1 ± 0,3 a | 42,7 ± 0,9 a    |
| C20:1ω11                      | 0,5 ± 0,1 a        | 0,5 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,1 a     |
| C18:2ω6                       | 22,3 ± 2,0 a       | 18,8 ± 0,9 b | 13,5 ± 0,3 c    |
| C18:3ω6                       | 0,2 ± 0,1 b        | 0,1 ± 0,0 c  | 0,5 ± 0,1 a     |
| C18:3ω3                       | 1,4 ± 0,2 a        | 1,0 ± 0,0 b  | 0,6 ± 0,1 c     |
| C20:2ω6                       | 0,3 ± 0,1 b        | 0,3 ± 0,1 b  | 0,5 ± 0,1 a     |
| C20:4ω6                       | 0,4 ± 0,1 a        | 0,3 ± 0,1 a  | 0,4 ± 0,0 a     |
| Saturados                     | 33 b               | 36 b         | 39 a            |
| Monoinsaturados               | 43 a               | 44 a         | 46 a            |
| Poliinsaturados               | 24 a               | 20 b         | 15 c            |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,73               | 0,55         | 0,38            |
| Total ω3                      | 1,3                | 1,0          | 0,5             |
| Total ω6                      | 23,2               | 19,5         | 15,0            |
| ω6/ω3                         | 17,8               | 19,5         | 30,0            |

\* Média e desvio padrão de 30 amostras (5 marcas, 3 lotes analisados em duplicata). Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

### **3.4 – Comparação dos teores de colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos nos produtos cárneos processados**

Na Tabela 8 encontram-se as médias de colesterol e de lipídios totais de 30 amostras de cada um dos produtos cárneos processados analisados no presente trabalho.

Os teores de colesterol (mg/100g), obtidos neste estudo, variaram de 22 no apresuntado a 59 no salame Italiano. Não houve diferença significativa entre as amostras de almôndegas e hambúrguer, entre o jerked beef e a mortadela e entre o apresuntado e o presunto. Observa-se através dos desvios-padrão que a maior variação entre os lotes e as marcas foi na salsicha “hot-dog” e a menor no presunto tradicional.

Os teores de lipídios totais (g/100g) variaram de 3 no presunto a 25 no salame Italiano. Não houve diferença significativa entre as amostras de almôndegas e hambúrguer, entre o jerked beef e o apresuntado e entre a lingüiça toscana, a mortadela e o salame. A menor variação entre as marcas e seus respectivos lotes analisados foi encontrada nas amostras de presunto e a maior variação foi nas amostras de lingüiça.

A variação encontrada nos teores de colesterol e de lipídios totais entre os três lotes analisados da mesma marca e entre as marcas de um mesmo produto, pode estar relacionada com a raça, sexo, idade e dieta dos animais abatidos, e também com os ingredientes utilizados nas formulações dos produtos, bem como a qualidade e composição da matéria prima (carne e subprodutos) utilizada.

Tabela 8. Teores de colesterol (mg/100g de amostra) e lipídios totais (g/100g) em produtos cárneos processados.

| Produtos<br>Cárneos     | Colesterol<br>M $\pm$ DP* | Lipídios totais<br>M $\pm$ DP* |
|-------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| <b>Bovino</b>           |                           |                                |
| Almôndegas              | 29 $\pm$ 5 de             | 13 $\pm$ 4 bc                  |
| Hambúguer               | 29 $\pm$ 8 de             | 14 $\pm$ 2 bc                  |
| Jerked beef             | 43 $\pm$ 4 c              | 5 $\pm$ 3 c                    |
| <b>Suíno</b>            |                           |                                |
| Lingüiça toscana        | 32 $\pm$ 5 d              | 22 $\pm$ 7 a                   |
| Apresuntado tradicional | 22 $\pm$ 5 e              | 6 $\pm$ 2 c                    |
| Presunto tradicional    | 25 $\pm$ 3 e              | 3 $\pm$ 1 d                    |
| <b>Mistos</b>           |                           |                                |
| Salsichas “hot-dog”     | 52 $\pm$ 12 b             | 18 $\pm$ 4 b                   |
| Mortadela tradicional   | 43 $\pm$ 5 c              | 22 $\pm$ 2 a                   |
| Salame tipo Italiano    | 59 $\pm$ 7 a              | 25 $\pm$ 3 a                   |

\*Média e desvio padrão de 30 amostras (5 marcas, 3 lotes analisados em duplicata). Valores na mesma coluna com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

Comparando os resultados obtidos no presente trabalho com os da literatura, observou-se que NOVELLI *et al.* (1998), analisando onze amostras de mortadela, obtiveram maiores valores de lipídios totais e colesterol. Os teores de lipídios totais variaram de 22,74 a 34,49g/100g e os de colesterol de 52,11 a 138,14mg/100g. No entanto, para as quatorze amostras de salame tipo Milano analisadas, algumas amostras apresentaram valores de colesterol menores e outras maiores (34,29 a 119,01mg/100g) e os teores de lipídios totais foram, em geral, maiores que os do presente trabalho (26,41 a 35,97g/100g). RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.* (1997) encontraram em hambúguer valores de lipídios totais semelhantes (13,8g/100g) e maiores para colesterol (83,4mg/100g). Em



almôndegas, LARKESON *et al.* (2000) verificaram maior teor de colesterol (38,9mg/100g) e menor de lipídios totais (6,6g/100g). Analisando lingüiças (tipo comum) PEREIRA *et al.* (2000) obtiveram valores maiores de colesterol ( $50,9 \pm 12,8$ mg/100g) e menores para lipídios ( $17,0 \pm 4,2$ g/100g). Os teores de lipídios totais e colesterol para salsichas “hot-dog” descritos na Tabela de composição de alimentos de acordo com McCANCE & WIDDOWSON (1994) foram 25g/100g e 46mg/100g, respectivamente.

Os mesmos ácidos graxos principais foram encontrados nas amostras de produtos processados de carne bovina (almôndegas, hambúrguer e jerked beef), de carne suína (lingüiça toscana, apresuntado e presunto) e nos produtos cárneos processados mistos (salsichas “hot-dog”, mortadela tradicional e salame Italiano), mas nem sempre na mesma ordem.

LARKESON *et al.* (2000) obtiveram os mesmos ácidos graxos principais em almôndegas e hambúrguers que os do presente trabalho. TORRES *et al.* (1989) também encontraram os mesmos ácidos graxos principais em amostras de charque. PEREIRA *et al.* (2000) determinaram também, em ordem decrescente, os mesmos ácidos graxos principais em amostras de lingüiças tipo comum, sendo C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:0 e C16:1 $\omega$ 7, os mesmos obtidos no presente trabalho.

Quando os ácidos graxos foram convertidos para g/100g de amostra utilizando-se os teores de lipídios totais das amostras analisadas, observou-se que o teor de ácidos graxos saturados foi maior nas amostras de salame Italiano (9,7g/100g de amostra) e menor no presunto (1,1g/100g de amostra), sendo o ácido graxo C16:0 encontrado em maior concentração, seguido do C18:0.

A menor concentração de ácidos graxos monoinsaturados foi encontrada nas amostras de presunto (1,4g/100g de amostra) e a maior nas amostras de salame Italiano (11,5g/100g de amostra). O ácido graxo encontrado em maior quantidade foi o C18:1 $\omega$ 9, seguido do C16:1 $\omega$ 7.

O teor de ácidos graxos poliinsaturados foi menor nas amostras de jerked beef (0,2g/100g de amostra) e maior na mortadela (4,4g/100g de amostra), sendo o ácido graxo C18:2 $\omega$ 6 encontrado em maior quantidade.

TORRES *et al.* (1989) encontraram em charque maiores porcentagens de áreas de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados e menores porcentagens de ácidos graxos saturados.

PEREIRA *et al.* (2000) encontraram porcentagens de áreas menores de ácidos graxos saturados e maiores de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados nas amostras de linguiças tipo comum, comparadas com a porcentagem encontrada entre as amostras de linguiça toscana analisadas no presente trabalho.

O único ácido graxo  $\omega 3$  encontrado foi o C18:3 $\omega 3$ , sendo maior nas amostras de salsichas “hot-dog” e mortadela (0,2g/100g de amostra) e menor nas amostras de jerked beef e presunto (0,02g/100g de amostra).

A razão entre os teores de ácidos graxos poliinsaturados e saturados, encontrada no presente trabalho, foi menor nas amostras de jerked beef (0,08) e maior nas amostras de salsicha “hot-dog” (0,73). A razão  $\omega 6/\omega 3$  variou de 6,8 no jerked beef a 30,0 no presunto e no salame.

O ácido graxo isômero *trans* C18:1 $\omega 9$  foi encontrado em todas as amostras analisadas, variando de 6mg/100g de amostra no presunto a 0,4g/100g de amostra no hambúrguer. O C18:2 $\omega 6t$  foi detectado somente nas amostras de almôndegas, hambúrguer e jerked beef, variando de 0,01g/100g de amostra no jerked beef a 0,09g/100g de amostra nas almôndegas.

Os maiores teores de C18:1 $\omega 9t$  encontrados nas amostras de almôndegas e hambúrguer podem ser atribuídos à presença de gordura hidrogenada em suas formulações (Tabela 1). Os desvios-padrão apresentaram valores maiores para o ácido graxo C18:1 $\omega 9t$  nas amostras de hambúrguer e almôndegas devido à variação encontrada entre os lotes e marcas analisados.

Em gorduras de origem animal, os isômeros *trans* são componentes naturais, sendo formados através da biohidrogenação pela ação de enzimas da microbiota presente no rúmen de animais poligástricos, incluindo as isomerases e as hidrogenases (SMITH *et al.*, 1978). A quantidade de ácidos graxos *trans* em carnes de animais não ruminantes é geralmente baixa e depende da presença de ácidos graxos *trans* nas rações (ARO *et al.*, 1998).

### 3.5 – Óxidos de colesterol

De todos os óxidos de colesterol pesquisados (colesta-4,6-dien-3-ona, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol e 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol), apenas o 7-cetocolesterol foi encontrado em quatro amostras, sendo uma marca de hambúrguer bovino, duas marcas de salsichas “hot-dog” (produtos cárneos mistos) e uma marca de mortadela tradicional (produto cárneo misto). O 7-cetocolesterol variou de 1,6 na salsicha a 3,2 $\mu$ g/g no hambúrguer (Tabela 9).

Tabela 9. Teores de 7-cetocolesterol ( $\mu$ g/g) em produtos cárneos processados.

| Amostras              | 7-cetocolesterol |
|-----------------------|------------------|
|                       | M*               |
| Hambúrguer bovino     |                  |
| marca 5               | 3,2              |
| Salsichas “hot-dog”   |                  |
| marca 2               | 1,6              |
| marca 4               | 2,0              |
| Mortadela tradicional |                  |
| marca 5               | 2,6              |

\*Média das determinações em duplicata.

A baixa incidência de óxidos de colesterol nos produtos cárneos processados, segundo TAI *et al.* (1999), pode estar relacionada com o uso de antioxidantes adicionados às formulações, e também com o emprego de embalagens apropriadas, as quais proporcionam uma barreira física ao ar e à luz. Um dos problemas analíticos da determinação de óxidos de colesterol é a formação de artefatos. Durante as análises foram tomados vários cuidados para

impedir a formação de artefatos, como evitar a incidência da luz sobre as amostras durante a extração das mesmas, saponificação realizada em atmosfera inerte ( $N_2$ ), a frio ( $20^0C$ ) e no escuro e o uso de solventes isentos de peróxidos.

PARK & ADDIS (1985) também não encontraram óxidos de colesterol em hambúrguer, charque e lingüiça de fígado. No entanto, TORRES *et al.* (1989) determinaram em amostras de charque 7-cetocolesterol (0,88 a  $5,54\mu/g$ ),  $7\beta$ -hidroxicolesterol (0,38 a  $3,16\mu/g$ ) e colestanol (1,82 a  $3,92\mu/g$ ).

NOVELLI *et al.* (1998) encontraram 7-cetocolesterol em sete amostras de salame das quatorze analisadas e em cinco amostras de mortadela das onze analisadas. Valores mais elevados de 7-cetocolesterol foram obtidos nas amostras de mortadela e menores valores nas amostras de salame, que os do presente trabalho. Relataram também  $5,6\alpha$ -epoxicolesterol em cinco amostras de salame e em dez amostras de mortadela,  $7\beta$ -hidroxicolesterol em duas amostras de salame e em uma amostra de mortadela e 25-hidroxicolesterol somente em três amostras de salame.

SCHMARR *et al.* (1996) encontraram valores menores de 7-cetocolesterol (0,57 a  $1,09\mu/g$ ) em salame que os do presente trabalho. Obtiveram também os óxidos  $5,6\beta$ -epoxicolesterol,  $7\alpha$ -hidroxicolesterol e  $7\beta$ -hidroxicolesterol nos dois tipos de salame analisados, no entanto, o  $5,6\alpha$ -epoxicolesterol e  $20\alpha$ -hidroxicolesterol foram encontrados em somente um tipo de salame.

HIGLEY *et al.* (1986) determinaram em amostras de hambúrguer  $7\beta$ -hidroxicolesterol ( $3,6\mu/g$ ) e colestanol ( $1298\mu/g$ ), e em amostras de salsichas  $7\alpha$ -hidroxicolesterol ( $1640\mu/g$ ) e colestanol ( $1335\mu/g$ ). Estes níveis excepcionalmente altos de óxidos de colesterol não foram confirmados por espectrometria de massas.

LARKESON *et al.* (2000) verificaram a presença de óxidos de colesterol em amostras de almôndegas (50% carne bovina + 50% carne suína) e hambúrguer bovino, sendo, respectivamente,  $7\alpha$ -hidroxicolesterol (0,9 a 2,8 e 0,7 a  $9,9\mu/g$ ),  $7\beta$ -hidroxicolesterol (0,8 a 6,0 e 1,4 a  $9,4\mu/g$ ), 7-cetocolesterol (0,8 a 2,9 e 0,8 a

15,7µg/g), 5,6α-epoxicolesterol (0,2 a 2,5 e 0,7 a 3,7µg/g), 5,6β-epoxicolesterol (0,6 a 2,6 e 0,9 a 10,3µg/g) e colestanol (traços a 0,4 e traços a 1,0µg/g).

Vários óxidos de colesterol foram encontrados em hambúrguer, lingüiça, presunto e salame, sendo eles 7-cetocolesterol, 7β-hidroxicolesterol, 5,6α-epoxicolesterol, 5,6β-epoxicolesterol e colestanol (OSADA *et al.*, 2000).

## 4 – CONCLUSÃO

Dos produtos cárneos processados, analisados no presente trabalho, o menor teor de colesterol foi obtido no apresuntado e o menor valor de lipídios totais no presunto. O salame Italiano apresentou maiores teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos monoinsaturados. As salsichas “hot-dog” e a mortadela tradicional apresentaram maiores teores de ácidos graxos poliinsaturados, quando expressos em g/100g de amostra.

O 7-cetocolesterol foi o único óxido de colesterol encontrado, sendo em uma amostra de hambúrguer bovino, em duas amostras de salsichas “hot-dog” e em uma amostra de mortadela tradicional.

## 5 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte e apoio financeiro.

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARO, A.; ANTOINE, J. M.; PIZZOFERRATO, L.; REYKDAL, O. & van POPEL, G. *Trans* fatty acids in dairy and meat products from 14 European Countries: the Transfair study. **J. Food Comp. Anal.**, **11**: 150-160, 1998.

DATAMARK. (2001). Market data meat products. Retrieved January 25, 2002 from the World Wide Web: <http://www.datamark.com.br>.

FINOCCHIARO, E. T. & RICHARDSON, T. Sterol oxides in foodstuffs: a review. **J. Food Prot.**, **46**: 917-923, 1983.

FOLCH, J. LESS, M. & STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, **226**: 497-509, 1957.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P. B.; RAFECAS, M. & BOATELLA, Biological Effects of Oxysterols: Current Status. **Food Chem. Toxicol.** **34**: 193-198, 1996.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Pract.**, **22**: 475-481, 1973.

HIGLEY, N. A.; TAYLOR, S. L.; HERIAN, A. M. & LEE, K. Cholesterol oxides in processed meats. **Meat Sci.**, **16**: 175-188, 1986.

IMAI, H.; WERTHESSEN, N. T.; TAYLOR, B. & LEE, K. T. Angiotoxicity and arteriosclerosis due to contaminants of USP-grade cholesterol. **Arch. Pathol. Med.**, **100**: 565-572, 1976.

KEPLER, C. R.; HIRONS, K. P.; McNEILL, J. J. & TOVE, S. B. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **J. Biol. Chem.**, **241**: 1350-1354, 1966.

KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends Food Sci. Technol.**, **1**: 67-74, 1990.

LARKESON, B.; DUTTA, P. C. & HANSSON, I. Effects of frying and storage on cholesterol oxidation in minced meat products. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **77**: 675-680, 2000.

McCANCE, R. A. & WIDDOWSON, E. M. **The Composition of Foods**. 5 ed. Richard Chy Ltd, Bungay, Suffolk, 1994.

NOVELLI, E.; ZANARDI, E.; GHIRETTI, G. P.; CAMPANINI, G.; DAZZI, G.; MADARENA, G. & CHIZZOLINI, R. Lipid and Cholesterol Oxidation in Frozen Stored Pork, Salame Milano and Mortadella. **Meat Sci.**, **48**: 29-40, 1998.

OHSHIMA, T.; LI, N. & KOIZUMI, C. Oxidative decomposition of cholesterol in fish products. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **70**: 595-600, 1993.

OSADA, K.; HOSHINA, S.; NAKAMURA, S. & SUGANO, M. Cholesterol oxidation in meat products and its regulation by supplementation of sodium nitrite and apple polyphenol before processing. **J. Agric. Food Chem.**, **48**: 3823-3829, 2000.

PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D. & GERMAN, B. G. Cholesterol Oxides in Foods of Animal Origin. **J. Food Sci.**, **60**: 1159-1174, 1995.

PARK, S. W. & ADDIS, P. B. HPLC determination of C7 oxidized cholesterol derivatives in foods. **J. Food Sci.**, **50**: 1437-1444, 1985.

PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; ZUNIN, P.; EVANGELISTI, F.; TISCORNIA, E.; GALLINA-TOSCHI, T. & LERCKER, G. Routine high performance liquid chromatographic determination of free 7-ketocholesterol in some foods by two different analytical methods. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **72**: 1523-1527, 1995.

PEREIRA, N. R.; TARLEY, C. R. T.; MATSUSHITA, M. & SOUZA, N. E. Proximate composition and fatty acid profile in brazilian poultry sausages. **J. Food Comp. Anal.**, **13**: 915-920, 2000.

ROBERTS, W. C. Atherosclerosis risk factors are there ten, or is there only one? **Atherosclerosis**, **79**: 1146-1148, 1992.

RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; BERTACCO, G. & LERCKER, G. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburguers. **Meat Sci.**, **45**: 365-375, 1997.

SANDER, B. D.; ADDIS, P. B.; PARK, S. W. & SMITH, D. E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. **J. Food Prot.**, **52**: 109-114, 1989.

SEVANIAN, A. & PETERSON, A. R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. **Food Chem. Toxicol.**, **24**: 1103-1109, 1986.

SCHMARR, H.; GROSS, H. B.; SHIBAMOTO, T. Analysis of polar cholesterol oxidation products: evaluation of a new method involving transesterification, solid phase extraction, and gas chromatography. **J. Agri. Food Chem.**, **44**: 512-517, 1996.

SMITH, L. L. Cholesterol Autoxidation. **Chem. Physis. Lipids**, **44**: 87-125, 1987.



SMITH, L. M.; DUNKLEY, W. L.; FRANKE, A. & DAIKIN, T. Measurement of trans other isomeric insaturated fatty acid in butter and margarine. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **55**: 257-261, 1978.

TAI, C. Y.; CHEN, Y. C. & CHEN, B. H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: An overview (Part I). **J. Food Drug Anal.**, **7 (4)**: 243-258, 1999.

TAYLOR, B.; PENG, S. K.; WERTHESEN, N. T.; THAM, P. & LEE, K. T. Spontaneously occurring angiotoxic derivates of cholesterol. **Am. J. Clin. Nutr.**, **32**: 40-57, 1979.

TORRES, E.; PEARSON, A. M.; GRAY, J. L.; KU, P. K. Lipid oxidation in charqui (salted and dried beef). **Food Chem.**, **32**: 257-268, 1989.

USDA. **Nutrient Database for Standart Reference** (Release 15). Nutriente Data Laboratory Home Page, <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR15/reports/sr15page.htm>, 2003.

ZUNIN, P. Cholesterol oxidation in baked foods containing fresh and powdered eggs. **J. Food Sci.**, **60**: 913-916, 1995.

ZUNIN, P.; EVANGELISTI, F.; CALCAGNO, C. & TISCORNIA, E. Cholesterol oxidation in dried egg pasta: detecting 7-ketocholesterol content. **Cereal Chem.**, **73**: 691-694, 1997.

## **CAPÍTULO 5**

### **DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ÓXIDOS DE COLESTEROL, COLESTEROL, LIPÍDIOS TOTAIS E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS PROCESSADOS DE CARNE DE FRANGO E DE CHESTER**

---

## RESUMO

No presente trabalho, a partir da mesma extração lipídica, foram determinados os óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e a composição de ácidos graxos em produtos processados de carne de frango (salsicha, lingüiça e mortadela) e de chester (mortadela, salsicha, hambúrguer e lingüiça). O colesterol e os óxidos de colesterol foram determinados simultaneamente por cromatografia líquida de alta eficiência com detector por conjunto de diodos fixado a 210nm e detector por índice de refração. Os lipídios totais foram determinados por gravimetria e a composição de ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa com coluna capilar CP-SIL 88 (50m x 0,25mm; 0,20 $\mu$ m). Nenhum dos óxidos de colesterol pesquisados (colesta-4,6-dien-3-ona, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol e 7-cetocolesterol) foi encontrado nas amostras analisadas. A salsicha de chester apresentou o maior teor de colesterol (64mg/100g) e menor valor de lipídios totais (8g/100g). O hambúrguer de chester foi o que mostrou menor teor de colesterol (31mg/100g) e a mortadela de frango o maior teor de lipídios totais (19,1g/100g). Os principais ácidos graxos identificados nas amostras de produtos processados de carne de frango e de chester foram: C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:0, C16:1 $\omega$ 7, C18:3 $\omega$ 3, C14:0 e C20:4 $\omega$ 6. As amostras de mortadela de frango e de chester apresentaram maiores teores de ácidos graxos poliinsaturados, considerando os teores de lipídios totais encontrados nos produtos cárneos.

---

## SUMMARY

In this study, cholesterol oxides, cholesterol, total lipids and the fatty acid composition of processed chicken (frankfurter, sausage and mortadella) and chester (mortadella, frankfurter, hamburger and sausage) products, were determined from the same lipid extract. Cholesterol and cholesterol oxides were detected simultaneously by high performance liquid chromatography using a diode array detector at 210nm and refractive index detector. Total lipids were determined by a gravimetric method and the fatty acid composition by gas chromatography using a CP-SIL 88 capillary column (50m x 0.25mm; 0.20 $\mu$ m). None of the cholesterol oxides investigated (cholesta-4,6-dien-3-one, 20 $\alpha$ -hydroxycholesterol, 25-hydroxycholesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxycholesterol, 5,6 $\beta$ -epoxycholesterol, 7 $\alpha$ -hydroxycholesterol, 7 $\beta$ -hydroxycholesterol and 7-cetocholesterol) was found in the samples analyzed. The chester frankfurters showed the highest levels of cholesterol (64mg/100g) and the lowest total lipid content (8g/100g). The chester hamburger showed the lowest cholesterol level (31mg/100g) and the chicken mortadella the highest total lipid content (19.1g/100g). The main fatty acids identified in the processed chicken and chester products were: C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:0, C16:1 $\omega$ 7, C18:3 $\omega$ 3, C14:0 and C20:4 $\omega$ 6. The chicken and chester mortadella showed the highest polyunsaturated fatty acid content.

---

## 1 – INTRODUÇÃO

A produção de aves domésticas tem aumentado muito nos últimos 20 anos. Novas espécies foram geneticamente desenvolvidas para a comercialização, por exemplo, espécies com crescimento rápido e um alto desenvolvimento da carcaça, especialmente no peito, como a espécie de frango desenvolvida chamada Chester, que tem 70% da carne concentrada no peito e coxas.

A AMERICAN HEART ASSOCIATION (2003) recomenda, para indivíduos com níveis normais de colesterol sangüíneo, uma ingestão diária de lipídios totais menor ou igual a 30% do total de calorias, gordura saturada menor que 10% do total de calorias e colesterol menor que 300mg/dia. No entanto, a ingestão de colesterol em indivíduos que apresentam doenças cardíacas deve ser menor que 200mg/dia.

Os ácidos graxos *trans* são mais preocupantes que os saturados, porque além de aumentarem o nível de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol), diminuem o nível de lipoproteínas de alta densidade (HDL-colesterol) (LAMBERTSON, 1992).

A quantidade de ácidos graxos *trans* em carne de animais não ruminantes é em geral baixa e depende também da presença de ácidos graxos *trans* na ração dos animais (PFALZGRAF *et al.*, 1993). ARO *et al.* (1998) obtiveram valores de ácidos graxos *trans* que variaram de 0,24 a 1,71% em amostras de carne de frango provenientes de quatorze países europeus e atribuíram as diferenças encontradas aos fatores sazonais, sistemas de criação e possivelmente a idade dos animais.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo integrado sobre óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos em produtos processados de carne de frango e de chester.

---

## 2 – MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 – Material

Foram analisados três tipos de produtos processados de carne de frango (salsicha, lingüiça e mortadela) e quatro tipos de produtos processados de carne de chester (mortadela, salsicha, hambúrguer e lingüiça). A composição básica destes produtos cárneos processados encontra-se na Tabela 1.

Os prazos de validade destes produtos são de 60 dias para a salsicha, de 90 dias para a lingüiça e mortadela e de 120 dias para o hambúrguer. As condições de armazenamento para salsicha, lingüiça e mortadela são em temperatura de refrigeração (até +8<sup>0</sup>C), e o hambúrguer deve ser conservado congelado (-12<sup>0</sup>C a -18<sup>0</sup>C).

Para cada um destes produtos foi analisada uma marca, com exceção da salsicha de frango, que foram duas marcas. Para cada marca foram analisados três lotes com diferentes datas de validade. Cada lote foi composto por três unidades.

As amostras foram analisadas imediatamente após a aquisição das mesmas nos supermercados de Campinas. Os produtos processados foram integralmente triturados e homogeneizados em multiprocessador até obtenção de uma massa homogênea. Amostras de 50g foram tomadas para análises em duplicata.

### 2.2 – Métodos

A extração dos lipídios foi realizada como descrito por FOLCH *et al.* (1957).

Alíquotas do mesmo extrato foram tomadas para a determinação simultânea de lipídios totais, por pesagem após a evaporação do solvente; óxidos de colesterol e colesterol, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); e, a composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa.

Tabela 1. Composição básica dos produtos cárneos processados.

| Produtos       | Ingredientes                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Frango</b>  |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Salsicha       | Carne de frango, carne mecanicamente separada de ave, gordura de frango, proteína de soja, sal, amido (máx. 2%), condimentos naturais, glutamato monossódico, nitrito e nitrato de sódio e eritorbato de sódio.                                  |
| Lingüiça       | Carne de frango, proteína de soja, sal, condimentos naturais, nitrito de sódio, glutamato monossódico e eritorbato de sódio.                                                                                                                     |
| Mortadela      | Carne de frango, carne mecanicamente separada de ave, miúdos de frango, pele de frango, amido (máx. 5%), proteína de soja, condimentos e aromas naturais, glutamato monossódico, glicose, sal, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio. |
| <b>Chester</b> |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Salsicha       | Carne de ave chester, carne de ave mecanicamente separada, proteína vegetal, glicose, sal, amido (máx. 2%), condimentos naturais, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio.                                                              |
| Lingüiça       | Peito de chester, toucinho, sal, amido, especiarias, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio.                                                                                                                                           |
| Mortadela      | Carne de ave chester, carne de ave mecanicamente separada, amido (máx. 5%), proteína vegetal, glicose, sal, aromas naturais, nitrato e nitrito de sódio e eritorbato de sódio.                                                                   |
| Hambúrguer     | Carne de ave chester, proteína vegetal, glutamato monossódico, especiarias e eritorbato de sódio.                                                                                                                                                |

### 2.2.1 – Determinação simultânea de óxidos de colesterol e colesterol

Alíquotas do extrato lipídico foram secas em evaporador rotatório, saponificadas a frio e a matéria insaponificável foi extraída com éter etílico (SANDER *et al.*, 1989).

Utilizou-se um cromatógrafo líquido (Shimadzu, Japan) com sistema quaternário de solventes (LC-10ATVP); válvula "Rheodyne" com alça de amostragem de 20µL; forno de coluna (CTO-10ASVP); coluna de guarda Hypersil BDS CN (7,5 x 4,6mm, 5µm); coluna Nova Pak CN HP (300 x 3,9mm, 4µm); temperatura da coluna de 32°C; fase móvel composta de hexano/isopropanol (96+4) com vazão de 1,0mL/min; detector por conjunto de diodos (SPD-M10AVP); detector por índice de refração (RID-10A) e software (CLASS-VP). Os espectros de absorbância foram tirados entre 200 e 400nm e os cromatogramas foram registrados a 210nm.

O colesterol e os óxidos de colesterol: colest-4,6-dien-3-ona, 20α-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 5,6α-epoxicolesterol, 5,6β-epoxicolesterol e 7β-hidroxicolesterol foram adquiridos da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). O 7α-hidroxicolesterol foi obtido da Steraloids Inc. (Wilton, EUA).

Todos os solventes usados para a extração e preparo da amostra foram grau analítico e para análise cromatográfica de grau cromatográfico, os quais foram filtrados em filtro Millipore (0,45µm) e degaseificados em ultra-som antes do uso.

A identificação dos picos do colesterol e dos óxidos de colesterol foi feita por comparação dos tempos de retenção do padrão e o da amostra, por co-cromatografia e espectros de absorbância.

A quantificação do colesterol e de seus produtos da oxidação foi feita por padronização externa. O colesterol foi quantificado pelo detector por índice de refração, por estar mais separado dos interferentes.



### 2.2.2 – Determinação da composição de ácidos graxos

Para a análise dos ácidos graxos, uma alíquota do extrato lipídico contendo aproximadamente 100mg de lipídios, foi seca em evaporador rotatório. As amostras foram transmetiladas de acordo com o método de HARTMAN & LAGO (1973), usando solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol como reagente de esterificação.

A cromatografia gasosa, para a análise de ácidos graxos, foi realizada em cromatógrafo KONIK, modelo HRCG 4000A, equipado com: injetor split, razão 75:1; coluna capilar CP-SIL 88, 50m de comprimento x 0,25mm de diâmetro interno e contendo 0,20µm de polietilenoglicol; detector por ionização em chama e uma workstation com software BORWIN. As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna programada, temperatura inicial 180°C/2min, elevando-se para 225°C numa escala de 5°C/min, permanecendo nesta temperatura por 15 minutos; gás de arraste, hidrogênio numa vazão de 0,5mL/min; gás “make-up”, nitrogênio a 30mL/min; temperatura do injetor, 270°C; e temperatura do detector, 300°C.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada pela comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras e padrões e co-cromatografia de padrões e amostras. Foram utilizados no total 36 padrões de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados adquiridos da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). A quantificação foi realizada por normalização de área e os resultados foram expressos em porcentagem de área.

### 2.2.3 – Análise estatística

Para verificar as diferenças entre os produtos cárneos processados, os resultados obtidos para colesterol, lipídios totais e ácidos graxos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a nível de 5%.

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 – Colesterol e óxidos de colesterol

Na Tabela 2 estão apresentados os teores de colesterol e de lipídios totais das amostras analisadas de produtos processados de carne de frango e de chester.

Tabela 2. Teores de colesterol (mg/100g) e lipídios totais (g/100g) em produtos processados de carne de frango e de chester.

| Produtos       | Colesterol    | Lipídios totais |
|----------------|---------------|-----------------|
| Cárneos        | M ± DP*       | M ± DP*         |
| <b>Frango</b>  |               |                 |
| Salsicha       |               |                 |
| marca 1        | 39,6 ± 2,6 c  | 10,5 ± 0,7 de   |
| marca 2        | 61,9 ± 3,5 a  | 13,7 ± 0,5 c    |
| Lingüiça       | 45,0 ± 1,8 bc | 11,4 ± 0,7 d    |
| Mortadela      | 46,3 ± 3,3 bc | 19,1 ± 0,3 a    |
| <b>Chester</b> |               |                 |
| Mortadela      | 51,9 ± 7,0 b  | 17,4 ± 0,2 b    |
| Salsicha       | 64,1 ± 4,2 a  | 8,4 ± 0,8 f     |
| Hambúrguer     | 31,0 ± 1,3 d  | 9,7 ± 0,9 e     |
| Lingüiça       | 40,4 ± 1,3 c  | 13,5 ± 0,1 c    |

\*Média e estimativa de desvio padrão de três amostras em duplicata para cada marca. Valores na mesma coluna com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

O teor de colesterol (mg/100g) não apresentou diferença significativa entre a salsicha de frango da marca 1 (39,6) e a lingüiça de chester (40,4); entre a salsicha de frango da marca 2 (61,9) e a salsicha de chester (64,1) e entre a

lingüiça (45,0) e a mortadela (46,3) de frango. As duas marcas de salsicha de frango apresentaram diferença significativa. O maior teor de colesterol encontrado foi na salsicha de chester (64,1mg/100g) e o menor no hambúrguer de chester (31mg/100g).

As amostras de mortadela e de salsicha de chester apresentaram maiores variações nos teores de colesterol entre os lotes analisados, sendo encontrados desvios-padrão de 7 e 4,2, respectivamente. Esta variação é atribuída às amostras e não à metodologia, uma vez que entre as duplicatas os desvios-padrão foram baixos.

A variação dos teores de colesterol encontradas entre os lotes pode estar relacionada com alterações nas formulações dos produtos, bem como a qualidade e composição da matéria prima (carne e subprodutos) utilizada.

PEREIRA *et al.* (2000) encontraram teores de colesterol em lingüiça de frango e de chester de 43,6mg/100g, sendo próximos aos valores encontrados no presente trabalho (Tabela 2). Teor maior de colesterol em salsichas de frango foi encontrado na Tabela da USDA (2003), sendo 101mg/100g.

Uma comparação com outros produtos processados de carne de peru e bovina foi realizado, pois encontrou-se poucos trabalhos de produtos processados de carne de frango e chester. KING *et al.* (1998) obtiveram valores maiores de colesterol para presunto de peru (116mg/100g) e pastrame de peru (118mg/100g). NOVELLI *et al.* (1998) realizaram um estudo com quatorze amostras de salame tipo Milano e onze amostras de mortadela suína, determinando teores de colesterol maiores em oito amostras de salame Milano e em seis amostras de mortadela suína, as demais amostras apresentaram teores semelhantes aos obtidos no presente trabalho. Nas amostras de mortadela e de salame tipo Milano os teores de colesterol variaram de 52,11 a 138,14mg/100g na mortadela e de 34,29 a 119,01mg/100g no salame tipo Milano. RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.* (1997) também encontraram teores de colesterol maiores para hambúrguer bovino (83,4mg/hambúrguer). LARKESON *et al.* (2000) obtiveram valores semelhantes para hambúrguer bovino (46mg/100g) e almôndegas bovina (39mg/100g). Valores

semelhantes para salsicha “hot-dog” (46mg/100g) são apresentados na Tabela de Composição de Alimentos de acordo com McCANCE & WIDDOWSON (1994).

Dos óxidos de colesterol pesquisados (colesta-4,6-dien-3-ona, 20 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxicolesterol, 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, 7 $\beta$ -hidroxicolesterol e 7-cetocolesterol) nenhum deles foi encontrado nas amostras analisadas.

PARK & ADDIS (1985) também não encontraram óxidos de colesterol em amostras de hambúrguer bovino, charque e lingüiça de fígado.

A não ocorrência de óxidos de colesterol nos produtos cárneos processados pode estar relacionada com a adição de antioxidante nas formulações, o que pode ser observado na Tabela 1. Segundo TAI *et al.* (1999), o uso de antioxidantes nas formulações e também o emprego de embalagens apropriadas, que proporcionem uma barreira física ao ar e à luz, podem impedir a formação de produtos de oxidação do colesterol.

Um dos problemas analíticos na determinação de óxidos de colesterol é a formação de artefatos. Assim, durante as análises foram tomados vários cuidados para impedir a formação de artefatos, como evitar a incidência da luz sobre as amostras durante a extração das mesmas, realização da saponificação em atmosfera inerte (N<sub>2</sub>), a frio (20<sup>0</sup>C) e no escuro e o uso de solventes isentos de peróxidos.

### 3.2 – Lipídios totais e composição de ácidos graxos

O teor de lipídios totais (Tabela 2) variou de 8,4 na salsicha de chester a 19,1g/100g na mortadela de frango. Não houve diferença significativa entre os teores de lipídios totais encontrados nas amostras de salsicha de frango da marca 2 e de lingüiça de chester.

Observa-se através das estimativas dos desvios-padrão que houve pequena variação nos teores de lipídios totais entre os lotes analisados.

PEREIRA *et al.* (2000) encontraram teor de lipídios em lingüiça de frango (11,4g/100g) semelhante ao obtido no presente trabalho. No entanto, para lingüiça de chester (9,54g/100g) obtiveram valores menores.

Como foram encontrados poucos trabalhos em produtos processados de carne de frango e de chester, comparou-se os resultados obtidos no presente trabalho com outros produtos cárneos. NOVELLI *et al.* (1998) obtiveram valores maiores de lipídios totais em amostras de mortadela suína (34,49g/100g) e de salame tipo Milano (35,97g/100g). Na Tabela de Composição de Alimentos de acordo com McCANCE & WIDDOWSON (1994), os valores de lipídios totais para salsicha “hot-dog” são maiores (25g/100g). Teor também maior de lipídios totais em salsichas de frango foi encontrado na Tabela da USDA (2003), sendo 19,48g/100g. No entanto, RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.* (1997) encontraram valores semelhantes em hambúrguer bovino (13,8g/100g) e LARKESON *et al.* (2000) obtiveram valores menores em almôndegas bovinas (6,6g/100g).

As Tabelas 3 e 4 relacionam os ácidos graxos (% de área) encontrados nos produtos processados de carne de frango e de chester, respectivamente.

Os principais ácidos graxos encontrados nas amostras analisadas foram: C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:0, C16:1 $\omega$ 7 e C18:3 $\omega$ 3. PEREIRA *et al.* (2000) encontraram os mesmos ácidos graxos principais em amostras de lingüiça de frango e de chester, apresentando valores maiores para os ácidos graxos C18:1 $\omega$ 9, C18:0 e C16:1 $\omega$ 7 nas amostras de lingüiça de frango e valores menores para o C18:2 $\omega$ 6 tanto na lingüiça de frango quanto na lingüiça de chester.

Em relação aos ácidos graxos minoritários, observa-se que o ácido graxo C20:0 não foi detectado nas amostras de salsicha de frango da marca 2, salsicha e mortadela de chester, o C22:0 nas duas amostras de salsicha de frango, na salsicha e na mortadela de chester e o C24:0 não foi encontrado na salsicha de frango da marca 1.

Tabela 3. Composição de ácidos graxos (% de área) em produtos processados de carne de frango.

| Ácidos Graxos                 | Salsicha 1*  | Salsicha 2** | Mortadela    | Lingüiça     |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                               | M ± DP***    | M ± DP***    | M ± DP***    | M ± DP***    |
| C14:0                         | 0,8 ± 0,1 ab | 0,6 ± 0,0 b  | 0,8 ± 0,0 a  | 0,7 ± 0,1 ab |
| C15:0                         | 0,4 ± 0,1 b  | 0,3 ± 0,1 c  | 0,2 ± 0,1 c  | 0,4 ± 0,0 a  |
| C16:0                         | 26,3 ± 1,9 a | 22,8 ± 0,4 a | 24,1 ± 0,7 a | 24,8 ± 2,6 a |
| C17:0                         | 0,3 ± 0,1 bc | 0,5 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,0 b  | 0,1 ± 0,0 c  |
| C18:0                         | 6,5 ± 0,4 ab | 6,0 ± 0,0 b  | 7,0 ± 0,2 a  | 6,6 ± 0,2 ab |
| C20:0                         | 0,2 ± 0,0 a  | nd           | 0,1 ± 0,0 b  | 0,1 ± 0,0 b  |
| C22:0                         | nd           | nd           | 0,1 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C24:0                         | nd           | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C16:1ω7                       | 5,7 ± 0,4 a  | 4,4 ± 0,2 c  | 4,6 ± 0,1 bc | 5,1 ± 0,3 ab |
| C17:1ω7                       | 0,3 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,1 a  |
| C18:1ω9t                      | 0,3 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,1 a  |
| C18:1ω9                       | 36,9 ± 0,6 b | 35,2 ± 1,4 b | 39,3 ± 0,9 a | 36,8 ± 0,6 b |
| C20:1ω11                      | 0,2 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,1 a  |
| C18:2ω6                       | 20,5 ± 1,6 b | 26,6 ± 2,0 a | 20,7 ± 0,3 b | 22,3 ± 1,0 b |
| C18:3ω6                       | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C18:3ω3                       | 1,0 ± 0,1 b  | 2,0 ± 0,2 a  | 1,1 ± 0,2 b  | 1,2 ± 0,1 b  |
| C20:2ω6                       | 0,1 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C20:4ω6                       | 0,5 ± 0,1 b  | 0,6 ± 0,0 b  | 0,4 ± 0,0 b  | 0,7 ± 0,1 a  |
| Saturados                     | 35 a         | 30 b         | 33 ab        | 33 ab        |
| Monoinsaturados               | 43 a         | 40 c         | 44 a         | 42 b         |
| Poliinsaturados               | 22 b         | 30 a         | 23 b         | 25 ab        |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,6          | 1,0          | 0,7          | 0,8          |
| Total ω3                      | 1,0          | 2,0          | 1,0          | 1,2          |
| Total ω6                      | 21,4         | 27,5         | 21,5         | 23,3         |
| ω6/ω3                         | 21,4         | 13,7         | 21,5         | 19,4         |

\*Marca 1; \*\*Marca 2; \*\*\*Média e estimativa de desvio padrão de três amostras em duplicata.

nd = não detectado

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

Tabela 4. Composição de ácidos graxos (% de área) em produtos processados de carne de chester.

| Ácidos Graxos                 | Salsicha<br>M ± DP* | Hambúrguer<br>M ± DP* | Mortadela<br>M ± DP* | Lingüiça<br>M ± DP* |
|-------------------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| C14:0                         | 0,6 ± 0,0 c         | 0,8 ± 0,0 b           | 0,6 ± 0,0 c          | 1,1 ± 0,1 a         |
| C15:0                         | 0,4 ± 0,0 a         | 0,4 ± 0,0 ab          | 0,2 ± 0,1 b          | 0,4 ± 0,0 ab        |
| C16:0                         | 23,5 ± 0,1 b        | 24,9 ± 0,1 a          | 24,1 ± 0,3 ab        | 23,8 ± 0,8 b        |
| C17:0                         | 0,3 ± 0,1 b         | 0,2 ± 0,0 b           | 0,2 ± 0,1 b          | 0,5 ± 0,0 a         |
| C18:0                         | 6,3 ± 0,2 b         | 6,1 ± 0,1 b           | 5,9 ± 0,1 b          | 8,6 ± 0,4 a         |
| C20:0                         | nd                  | 0,1 ± 0,0 a           | nd                   | 0,1 ± 0,0 a         |
| C22:0                         | nd                  | 0,2 ± 0,0 a           | nd                   | 0,2 ± 0,0 a         |
| C24:0                         | 0,2 ± 0,0 a         | 0,1 ± 0,0 a           | 0,1 ± 0,0 a          | 0,2 ± 0,0 a         |
| C16:1ω7                       | 4,7 ± 0,2 b         | 5,7 ± 0,3 a           | 5,2 ± 0,2 ab         | 3,8 ± 0,2 c         |
| C17:1ω7                       | 0,4 ± 0,1 b         | 0,1 ± 0,0 c           | 0,3 ± 0,0 b          | 0,5 ± 0,0 a         |
| C18:1ω9t                      | 0,1 ± 0,0 b         | 0,2 ± 0,1 ab          | 0,1 ± 0,0 b          | 0,3 ± 0,0 a         |
| C18:1ω9                       | 35,9 ± 0,4 d        | 38,2 ± 0,1 b          | 37,1 ± 0,4 c         | 39,8 ± 0,4 a        |
| C20:1ω11                      | 0,3 ± 0,0 b         | 0,3 ± 0,0 b           | 0,2 ± 0,1 b          | 0,6 ± 0,1 a         |
| C18:2ω6                       | 24,6 ± 0,3 a        | 21,0 ± 0,1 b          | 23,7 ± 0,4 a         | 18,2 ± 0,7 c        |
| C18:3ω6                       | 0,2 ± 0,0 a         | 0,2 ± 0,0 a           | 0,2 ± 0,0 a          | 0,1 ± 0,0 b         |
| C18:3ω3                       | 1,5 ± 0,0 a         | 1,1 ± 0,0 c           | 1,3 ± 0,0 b          | 0,9 ± 0,1 d         |
| C20:2ω6                       | 0,2 ± 0,0 b         | 0,1 ± 0,0 b           | 0,2 ± 0,0 b          | 0,5 ± 0,0 a         |
| C20:4ω6                       | 0,9 ± 0,0 a         | 0,5 ± 0,0 b           | 0,5 ± 0,0 b          | 0,6 ± 0,1 b         |
| Saturados                     | 32 c                | 33 b                  | 31 c                 | 35 a                |
| Monoinsaturados               | 41 c                | 44 a                  | 43 b                 | 45 a                |
| Poliinsaturados               | 27 a                | 23 c                  | 26 b                 | 20 d                |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,8                 | 0,7                   | 0,8                  | 0,6                 |
| Total ω3                      | 1,5                 | 1,1                   | 1,3                  | 0,9                 |
| Total ω6                      | 25,8                | 21,8                  | 24,6                 | 19,3                |
| ω6/ω3                         | 17,2                | 19,8                  | 18,9                 | 21,4                |

\*Média e estimativa de desvio padrão de três amostras em duplicata.

nd = não detectado

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

A composição de ácidos graxos, quando expressa em g/100g de amostra, está relacionada diretamente com o teor de lipídio total. Assim, os produtos cárneos processados com maiores teores de lipídios totais apresentarão, proporcionalmente, maiores teores de ácidos graxos. Desta forma, as amostras de mortadela de frango e de chester apresentaram maiores valores para os principais ácidos graxos encontrados.

O teor de ácidos graxos saturados variou de, aproximadamente, 2,7g/100g de amostra na salsicha de chester a 6,3g/100g de amostra na mortadela de frango. O ácido graxo C16:0 foi encontrado em maior concentração, seguido do C18:0.

A menor concentração de ácidos graxos monoinsaturados foi encontrada na salsicha de chester (3,4g/100g de amostra) e a maior na mortadela de frango (8,4g/100g de amostra), apresentando teores semelhantes entre as amostras de hambúrguer de chester (4,3g/100g de amostra), salsicha de frango da marca 1 (4,5g/100g de amostra) e lingüiça de frango (4,8 g/100g de amostra). O ácido graxo encontrado em maior quantidade foi o C18:1 $\omega$ 9, seguido do C16:1 $\omega$ 7.

O conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados totais foi menor no hambúrguer de chester (2,2g/100g de amostra) e maior na mortadela de chester (4,5g/100g de amostra). Apresentou teores semelhantes entre as amostras de salsicha de frango da marca 1, hambúrguer e salsicha de chester, e entre as amostras de mortadela de frango e de chester. O ácido graxo C18:2 $\omega$ 6 foi encontrado em maior quantidade.

O único ácido graxo  $\omega$ 3 encontrado nas amostras analisadas foi o C18:3 $\omega$ 3, apresentando teores de 0,3g/100g de amostra na salsicha de frango da marca 2, 0,2g/100g de amostra nas amostras de mortadela de frango e de chester e de 0,1g/100g de amostra nas demais amostras analisadas.

A razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e saturados, encontrada no presente trabalho, foi maior nas amostras de salsicha de frango da marca 2 (1,0) e menor na salsicha de frango da marca 1 e na lingüiça de chester (0,6). A razão  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 foi menor na salsicha de frango da marca 2 e maior na mortadela de frango.



Apenas o ácido graxo isômero *trans* C18:1 $\omega$ 9 foi detectado nas amostras de produtos processados de carne de frango e de chester analisadas, variando de 8mg/100g de amostra na salsicha de chester a 40mg/100g de amostra nas amostras de mortadela de frango e lingüiça de chester. ARO *et al.* (1998) obtiveram porcentagens de áreas de ácidos graxos *trans* totais em amostras de carne de frango, variando de 0,2 a 1,7%. A quantidade de ácidos graxos *trans* em carnes de animais não ruminantes, como no caso das aves, é geralmente baixa e está relacionada com a presença de ácidos graxos *trans* nas rações (ARO *et al.*, 1993; SALES *et al.*, 1996).

Em relação aos aspectos nutricionais, verificou-se que os produtos processados de carne de frango e de chester apresentaram teores de lipídios totais acima de 5%, não sendo, portanto, alimentos de baixo teor de gordura (FOOD ADVISORY COMMITTEE da Inglaterra). O teor de colesterol variou de 31 a 64mg/100g estando abaixo do valor máximo recomendado de 300mg de colesterol/dia (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2003) e não foi encontrado nenhum óxido de colesterol. A razão de ácidos graxos poliinsaturados/saturados variou de 0,6 a 1,0, sendo acima do mínimo recomendado de 0,45, segundo o BRITISH DEPARTMENT OF HEALTH (1994) para a dieta total. A razão  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 variou de 13,7 a 21,4, ficando acima do máximo recomendado de 4 para a dieta total (BRITISH DEPARTMENT OF HEALTH, 1994). Estas deficiências devem ser compensadas com outros componentes da dieta.

## 4 – CONCLUSÃO

Dos produtos cárneos processados, analisados no presente trabalho, o hambúrguer de chester apresentou o menor teor de colesterol, enquanto que o menor valor de lipídios totais foi obtido na salsicha de chester. As amostras de mortadela de frango e de chester apresentaram maiores teores de ácidos graxos poliinsaturados, considerando os teores de lipídios totais dos produtos cárneos analisados.

Não foi encontrado nenhum óxido de colesterol nas amostras de produtos processados de carne de frango e de chester analisadas.

## 5 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte e apoio financeiro.

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Dietary Guidelines for Healthy American Adults**, (<http://www.americanheart.org/Heart-and-Stroke-A-Z-guide/dietg.html>), 2003.

ARO, A.; ANTOINE, J. M.; PIZZOFERRATO, L.; REYKDAL, O. & VAN POPPEL, G. *Trans* fatty acids in dairy and meat products from 14 European Countries: the transfair study. **J. Food Comp. Anal.**, **11**: 150-160, 1998.

DEPARTMENT OF HEALTH. 1994. **Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease**. Report on Health and Social Subjects n° 46. London.

FOLCH, J. LESS, M. & STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, **226**: 497-509, 1957.

FOOD ADVISORY COMMITTEE. 1990. **Report on review of food labelling and advertising**. London.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Pract.**, **22**: 475-481, 1973.

KING, A. J.; PANIANGVAIT, P.; JONES, A. D. & GERMAN, J. B. Rapid method for quantitation of cholesterol in turkey meat and products. **J. Food Sci.**, **63**: 382-386, 1998.

LAMBERTSON, G. *Trans* fatty acids topic for Lipidforum. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **3**: 196-197, 1992.

LARKESON, B.; DUTTA, P. C. & HANSSON, I. Effects of frying and storage on cholesterol oxidation in minced meat products. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **77**: 675-680, 2000.

McCANCE, R. A. & WIDDOWSON, E. M. **The Composition of Foods**. 5 ed. Richard Chy Ltd, Bungay, Suffolk, 1994.

NOVELLI, E.; ZANARDI, E.; GHIRETTI, G. P.; CAMPANINI, G.; DAZZI, G.; MADARENA, G. & CHIZZOLINI, R. Lipid and Cholesterol Oxidation in Frozen Stored Pork, Salame Milano and Mortadella. **Meat Sci.**, **48**: 29-40, 1998.

PARK, S. W. & ADDIS, P. B. HPLC determination of C7 oxidized cholesterol derivatives in foods. **J. Food Sci.**, **50**: 1437-1444, 1985.

PEREIRA, N. R.; TARLEY, C. R. T.; MATSUSHITA, M. & SOUZA, N. E. Proximate composition and fatty acid profile in brazilian poultry sausages. **J. Food Comp. Anal.**, **13**: 915-920, 2000.

PFALZGRAF, A.; TIMM, M. & STEINHART, H. Gehalte von *trans*-Fettsäuren in Lebens-mitteln. **Z. Ernährungswiss**, **33**: 24-43, 1993.

RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; BERTACCO, G. & LERCKER, G. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburguers. **Meat Sci.**, **45**: 365-375, 1997.

SALES, J.; MARAIS, D. & KRUGER, M. Fat content, caloric value, cholesterol content, and fatty acid composition of raw and cooked ostrich meat. **J. Food Comp. Anal.**, **9**: 85-89, 1996.

SANDER, B. D.; ADDIS, P. B.; PARK, S. W. & SMITH, D. E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. **J. Food Prot.**, **52**: 109-114, 1989.

TAI, C. Y.; CHEN, Y. C. & CHEN, B. H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: An overview (Part I). **J. Food Drug Anal.**, **7 (4)**: 243-258, 1999.

USDA. **Nutrient Database for Standart Reference** (Release 15). Nutriente Data Laboratory Home Page, <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR15/reports/sr15page.htm>, 2003.

## **CAPÍTULO 6**

# **EFEITO DO TEMPO DE ESTOCAGEM NA FORMAÇÃO DE ÓXIDOS DE COLESTEROL E ALTERAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS**

## RESUMO

Condições não ideais de armazenamento, como permeabilidade ao O<sub>2</sub> e exposição ao calor e luz, podem levar à formação de óxidos de colesterol. O objetivo do trabalho foi verificar o efeito do tempo de estocagem na formação de óxidos de colesterol e alteração da composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados. A metodologia empregada para a determinação de óxidos de colesterol e colesterol foi por CLAE segundo BAGGIO & BRAGAGNOLO (2004). Os ácidos graxos foram determinados por cromatografia gasosa com coluna capilar CP-SIL 88 (50 x 0,25mm, 0,20µm). Foram analisadas amostras de jerked beef, salame tipo Italiano, mortadela de frango e mortadela de chester. As amostras foram analisadas em intervalos de tempo de 30 dias, iniciando pelo tempo zero. O período de armazenamento utilizado foi equivalente ao prazo de validade de cada um dos produtos, 90 dias para as amostras de mortadela e 120 dias para o jerked beef e o salame. As amostras de mortadelas foram armazenadas sob refrigeração média de 6<sup>0</sup>C, as de jerked beef e de salame em temperatura ambiente e protegidos da luz. Não houve formação de óxidos de colesterol e nenhuma alteração na composição de ácidos graxos durante o tempo de estocagem das amostras. Os teores de colesterol e de lipídios totais não apresentaram diferença significativa entre os diferentes tempos de estocagem.

---

## SUMMARY

Unsuitable storage conditions, such as permeability to O<sub>2</sub> and exposure to heat and light can lead to the formation of cholesterol oxides. The objective of this study was to determine the effect of storage time on the formation of cholesterol oxides and on alterations in the fatty acid composition of processed meat products. Cholesterol oxides and cholesterol were determined by HPLC according to BAGGIO & BRAGAGNOLO (2004). The fatty acids were determined by gas chromatography using a CP-SIL 88 capillary column (50 x 0.25mm; 0.20µm). Samples of jerked beef, Italian type salame, chicken mortadella and chester mortadella were analyzed. The samples were analyzed at 30 day intervals, starting at zero time. The products were stored for periods equivalent to their official shelf life periods, 90 days for the mortadella samples and 120 days for the jerked beef and salame. The mortadellas were stored under refrigeration at 6°C, and the jerked beef and salame at room temperature, but protected from the light. No cholesterol oxides were formed during the storage time in any of the samples. The cholesterol and total lipid contents showed no significant difference during storage. There was no significant difference in the fatty acid composition of the various processed meat samples analyzed in this study, during the storage period.

## 1 – INTRODUÇÃO

Os lipídios podem sofrer alterações durante a estocagem dos alimentos com conseqüente perda do valor nutricional. A oxidação lipídica é uma das principais reações que podem ocorrer durante o armazenamento dos alimentos em condições como calor, presença de luz, metais, sensibilizadores naturais e oxigênio, afetando a composição dos ácidos graxos e colesterol, com formação de compostos potencialmente nocivos à saúde humana como os óxidos de colesterol.

Os óxidos de colesterol estão presentes na nossa dieta, podendo ser identificados nos alimentos com alto teor de colesterol, como carne e seus produtos processados, ovos e produtos com ovos, leite e seus derivados, (BÖSINGER *et al.*, 1993; RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.*, 1997). As altas temperaturas de cozimento e processamento, as condições de armazenamento e o tipo de embalagens empregadas nos alimentos podem influenciar na formação dos óxidos de colesterol (PANIANGVAIT *et al.*, 1995). Assim, o uso de embalagens capazes de evitar entrada de ar e luz, especialmente luz ultravioleta, e o uso de temperaturas adequadas no armazenamento dos alimentos contribuem para retardar a formação de óxidos de colesterol (SAVAGE *et al.*, 2002).

Os ácidos graxos saturados, ácidos graxos *trans*, gordura, colesterol e óxidos de colesterol presentes nos alimentos estão relacionados com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, as quais são responsáveis pelo maior número de mortes naturais no Brasil. Os ácidos graxos *trans* são mais preocupantes que os ácidos graxos saturados porque além de aumentarem o nível de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), diminuem o nível de lipoproteínas de alta densidade (HDL) (LAMBERTSON, 1992).

No Brasil, existem poucos trabalhos integrados sobre colesterol, óxidos de colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados e praticamente não existem trabalhos verificando o efeito da estocagem sobre estes componentes. Assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo verificando o efeito do tempo de estocagem sobre a



composição de ácidos graxos e a formação de óxidos de colesterol em produtos cárneos processados.

## **2 – MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 – Material**

Foram analisados quatro produtos cárneos processados, sendo um de carne bovina (jerked beef), um de carne suína (salame Italiano) um de carne de frango (mortadela) e um de carne de chester (mortadela). Estes produtos foram adquiridos, através dos distribuidores, após três dias da data de fabricação.

Para cada um destes produtos foram analisados 3 lotes com diferentes datas de validade. Cada lote de mortadela foi composto por 12 unidades e cada lote de jerked beef e de salame foi composto por 15 unidades, sendo 3 unidades utilizadas para cada um dos tempos de análises, ou seja, tempo zero, 30, 60 e 90 dias para as mortadelas e tempo zero, 30, 60, 90 e 120 dias para o jerked beef e salame.

As amostras, representando o tempo zero, foram imediatamente analisadas após a aquisição. O restante das unidades das amostras de mortadela de frango e de chester foi armazenado em suas embalagens originais e dentro de caixas de papelão sob refrigeração de 6<sup>0</sup>C (geladeira), as amostras de jerked beef e de salame foram armazenadas nas mesmas condições, porém em temperatura ambiente (25<sup>0</sup>C) e no escuro. Ao final de cada um dos intervalos de tempo de estocagem, as amostras foram analisadas. Os produtos processados foram integralmente triturados e homogeneizados em multiprocessador até obtenção de uma massa homogênea. Amostras de 50g foram tomadas para análises em duplicata.

## 2.2 – Métodos

A extração dos lipídios foi realizada como descrito por FOLCH *et al.* (1957).

Alíquotas do mesmo extrato foram tomadas para a determinação simultânea de lipídios totais, por pesagem após a evaporação do solvente; óxidos de colesterol e colesterol, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); e, a composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa.

### 2.2.1 – Determinação simultânea de óxidos de colesterol e colesterol

Alíquotas do extrato lipídico foram secas em evaporador rotatório, saponificadas a frio e a matéria insaponificável foi extraída com éter etílico (SANDER *et al.*, 1989).

Utilizou-se um cromatógrafo líquido (Shimadzu) com sistema quaternário de solventes (LC-10ATVP); válvula "Rheodyne" com alça de amostragem de 20µL; forno de coluna (CTO-10ASVP); coluna de guarda Hypersil BDS CN (7,5 x 4,6mm, 5µm); coluna Nova Pak CN HP (300 x 3,9mm, 4µm); temperatura da coluna de 32°C; fase móvel composta de hexano/isopropanol (96+4) com vazão de 1,0mL/min; detector por conjunto de diodos (SPD-M10AVP); detector por índice de refração (RID-10A) e software (CLASS-VP). Os espectros de absorbância foram tirados entre 200 e 400nm e os cromatogramas foram registrados a 210nm.

O colesterol e os óxidos de colesterol: colest-4,6-dien-3-ona, 20α-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 5,6α-epoxicolesterol, 5,6β-epoxicolesterol e 7β-hidroxicolesterol foram adquiridos da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). O 7α-hidroxicolesterol foi obtido da Steraloids Inc. (Wilton, EUA).

Todos os solventes usados para a extração e preparo da amostra foram grau analítico e para análise cromatográfica de grau cromatográfico, os quais

foram filtrados em filtro Millipore (0,45µm) e degaseificados em ultra-som antes do uso.

A identificação dos picos do colesterol e dos óxidos de colesterol foi feita por comparação dos tempos de retenção do padrão e o da amostra, por co-cromatografia e espectros de absorbância.

A quantificação do colesterol e de seus produtos da oxidação foi feita por padronização externa. O colesterol foi quantificado pelo detector por índice de refração, por estar mais separado dos interferentes.

### **2.2.2 – Determinação da composição de ácidos graxos**

Para a análise dos ácidos graxos, uma alíquota do extrato lipídico contendo aproximadamente 100mg de lipídios, foi seca em evaporador rotatório. As amostras foram transmetiladas de acordo com o método de HARTMAN & LAGO (1973), usando solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol como reagente de esterificação.

A cromatografia gasosa, para a análise de ácidos graxos, foi realizada em cromatógrafo KONIK, modelo HRCG 4000A, equipado com: injetor split, razão 75:1; coluna capilar CP-SIL 88, 50m de comprimento x 0,25mm de diâmetro interno e contendo 0,20µm de polietilenoglicol; detector por ionização em chama e uma workstation com software BORWIN. As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna programada, temperatura inicial 180°C/2min, elevando-se para 225°C numa escala de 5°C/min, permanecendo nesta temperatura por 15 minutos; gás de arraste, hidrogênio numa vazão de 0,5mL/min; gás “make-up”, nitrogênio a 30mL/min; temperatura do injetor, 270°C; e temperatura do detector, 300°C.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada por comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras e padrões e co-cromatografia de padrões e amostras. Foram utilizados no total 36 padrões de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados da Sigma Chemical Company (St.

Louis, EUA). A quantificação foi realizada por normalização de área e os resultados foram expressos em porcentagem de área.

## **2.3 – Análise estatística**

Para verificar as diferenças entre os lotes e entre os diferentes tempos de estocagem dos produtos cárneos processados, os resultados obtidos para colesterol, lipídios totais e ácidos graxos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a nível de 5%.

# **3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **3.1 – Efeito do tempo de estocagem no teor de colesterol e óxidos de colesterol**

Na Tabela 1 estão apresentados os teores de colesterol dos produtos cárneos processados analisados durante o período de estocagem.

Observa-se que houve diferença significativa nos teores de colesterol entre a maioria dos lotes de cada amostra, no mesmo período de estocagem. O tempo de armazenamento não alterou o teor de colesterol nas amostras, uma vez que não houve diferença significativa entre os tempos analisados durante todo o período de armazenamento, variando de 40 a 46mg/100g no jerked beef; de 48 a 57mg/100g no salame; de 45 a 50mg/100g na mortadela de frango e de 46 a 53mg/100g na mortadela de chester.

Observa-se que os valores altos das estimativas dos desvios-padrão das três amostras em duplicata estão relacionados com as variações encontradas entre os lotes analisados e não com a metodologia analítica.

Tabela 1. Teores de colesterol (mg/100g) em produtos cárneos processados, durante o período de estocagem.

| Amostra/<br>Lote            | Colesterol (M $\pm$ DP*) |                         |                         |                         |                         |
|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                             | Tempo zero               | 30 dias                 | 60 dias                 | 90 dias                 | 120 dias                |
| <b>Jerked beef</b>          |                          |                         |                         |                         |                         |
| L1                          | 40,4 $\pm$ 0,3 c         | 34,6 $\pm$ 0,4 c        | 34,2 $\pm$ 0,5 c        | 44,4 $\pm$ 0,7 a        | 32,7 $\pm$ 0,6 b        |
| L2                          | 45,2 $\pm$ 0,2 b         | 40,4 $\pm$ 0,2 b        | 42,0 $\pm$ 0,3 b        | 47,1 $\pm$ 0,7 a        | 49,2 $\pm$ 1,0 a        |
| L3                          | 47,4 $\pm$ 0,4 a         | 43,4 $\pm$ 0,1 a        | 47,2 $\pm$ 0,2 a        | 47,6 $\pm$ 1,4 a        | 52,0 $\pm$ 0,6 a        |
| M $\pm$ DP**                | 44 $\pm$ 3 <sup>a</sup>  | 40 $\pm$ 4 <sup>a</sup> | 41 $\pm$ 6 <sup>a</sup> | 46 $\pm$ 2 <sup>a</sup> | 45 $\pm$ 9 <sup>a</sup> |
| <b>Salame</b>               |                          |                         |                         |                         |                         |
| L1                          | 50,9 $\pm$ 0,1 b         | 50,3 $\pm$ 0,2 c        | 56,0 $\pm$ 0,1 b        | 62,6 $\pm$ 0,2 a        | 42,7 $\pm$ 0,2 c        |
| L2                          | 48,4 $\pm$ 0,4 c         | 55,4 $\pm$ 0,3 b        | 61,6 $\pm$ 1,0 a        | 43,6 $\pm$ 0,4 c        | 45,6 $\pm$ 0,5 b        |
| L3                          | 59,7 $\pm$ 0,4 a         | 59,3 $\pm$ 0,6 a        | 52,2 $\pm$ 1,3 b        | 59,8 $\pm$ 0,1 b        | 56,0 $\pm$ 0,3 a        |
| M $\pm$ DP**                | 53 $\pm$ 5 <sup>a</sup>  | 55 $\pm$ 4 <sup>a</sup> | 57 $\pm$ 4 <sup>a</sup> | 55 $\pm$ 9 <sup>a</sup> | 48 $\pm$ 6 <sup>a</sup> |
| <b>Mortadela de frango</b>  |                          |                         |                         |                         |                         |
| L1                          | 50,2 $\pm$ 0,3 a         | 49,9 $\pm$ 0,3 b        | 44,9 $\pm$ 0,5 b        | 42,4 $\pm$ 0,3 b        | -----                   |
| L2                          | 42,8 $\pm$ 0,3 c         | 45,6 $\pm$ 0,2 c        | 50,0 $\pm$ 0,3 a        | 44,9 $\pm$ 0,9 b        | -----                   |
| L3                          | 45,9 $\pm$ 0,6 b         | 54,9 $\pm$ 0,5 a        | 44,7 $\pm$ 0,5 b        | 48,5 $\pm$ 0,5 a        | -----                   |
| M $\pm$ DP**                | 46 $\pm$ 3 <sup>a</sup>  | 50 $\pm$ 4 <sup>a</sup> | 47 $\pm$ 3 <sup>a</sup> | 45 $\pm$ 3 <sup>a</sup> | -----                   |
| <b>Mortadela de chester</b> |                          |                         |                         |                         |                         |
| L1                          | 59,8 $\pm$ 0,5 a         | 55,4 $\pm$ 0,4 a        | 45,2 $\pm$ 0,3 b        | 53,0 $\pm$ 0,5 a        | -----                   |
| L2                          | 51,9 $\pm$ 0,5 b         | 43,7 $\pm$ 0,2 b        | 49,1 $\pm$ 0,7 a        | 48,5 $\pm$ 0,4 b        | -----                   |
| L3                          | 45,8 $\pm$ 0,1 c         | 44,1 $\pm$ 0,8 b        | 45,4 $\pm$ 0,5 b        | 36,7 $\pm$ 0,8 c        | -----                   |
| M $\pm$ DP**                | 53 $\pm$ 6 <sup>a</sup>  | 48 $\pm$ 6 <sup>a</sup> | 47 $\pm$ 2 <sup>a</sup> | 46 $\pm$ 8 <sup>a</sup> | -----                   |

\* Média e estimativa do desvio padrão das determinações em duplicata. \*\* Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata nos diferentes tempos de estocagem. Valores na mesma coluna com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para os lotes. Valores na mesma linha com letras iguais sobrescritas não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para os tempos de estocagem.

Não houve formação de nenhum óxido de colesterol nos quatro produtos cárneos processados analisados em diferentes tempos de estocagem, nas condições de armazenamento. A não ocorrência de óxidos de colesterol nos produtos cárneos processados, analisados no presente trabalho, pode estar relacionada com a adição de antioxidantes nas formulações, uma vez que todos estes produtos aqui analisados, de acordo com as embalagens, continham a adição de eritorbato de sódio como antioxidante. Segundo TAI *et al.* (1999), o uso de antioxidantes nas formulações e também o emprego de embalagens apropriadas, que proporcionem uma barreira física ao ar e à luz, podem impedir a formação de produtos de oxidação do colesterol.

Na literatura existem poucos trabalhos de estudo de vida útil realizados em produtos cárneos processados. Não foi encontrado nenhum estudo integrado sobre óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados, investigando possíveis alterações nestes compostos durante o tempo de estocagem.

Geralmente, quando encontra-se algum estudo de armazenamento, este é realizado com amostras que sofreram algum tipo de tratamento térmico, como cozimento e fritura.

LARKESON *et al.* (2000) verificaram que não houve aumento significativo no teor de óxidos de colesterol em almôndegas (50% de carne suína + 50% de carne bovina) e hambúrguer bovino fritos e armazenados por duas semanas a 4°C. No entanto, observaram que após a fritura das amostras já pré fritas o teor de óxidos de colesterol ( $\mu\text{g/g}$  de lipídios) aumentou de 8 para 16 nas almôndegas e de 29 a 50 no hambúrguer, armazenados por duas semanas a 4°C.

### 3.2 – Efeito do tempo de estocagem no teor de lipídios totais

Observa-se na Tabela 2 que os teores de lipídios totais das amostras de jerked beef, salame Italiano, mortadela de frango e mortadela de chester apresentaram diferença significativa apenas entre os lotes analisados.

Tabela 2. Teores de lipídios totais (g/100g) em produtos cárneos processados, durante o período de estocagem.

| Amostra/<br>Lote            | Lipídios Totais (M $\pm$ DP*) |                             |                             |                             |                            |
|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|                             | Tempo zero                    | 30 dias                     | 60 dias                     | 90 dias                     | 120 dias                   |
| <b>Jerked beef</b>          |                               |                             |                             |                             |                            |
| L1                          | 2,6 $\pm$ 0,0 c               | 2,3 $\pm$ 0,0 b             | 2,5 $\pm$ 0,0 b             | 2,8 $\pm$ 0,0 a             | 2,4 $\pm$ 0,0 b            |
| L2                          | 3,3 $\pm$ 0,1 b               | 3,2 $\pm$ 0,1 a             | 3,1 $\pm$ 0,0 a             | 2,7 $\pm$ 0,0 a             | 2,9 $\pm$ 0,0 a            |
| L3                          | 2,7 $\pm$ 0,0 a               | 2,4 $\pm$ 0,0 b             | 2,2 $\pm$ 0,0 c             | 2,5 $\pm$ 0,0 b             | 2,8 $\pm$ 0,0 a            |
| M $\pm$ DP**                | 2,6 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>    | 2,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>  | 2,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>  | 2,6 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>  | 2,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup> |
| <b>Salame</b>               |                               |                             |                             |                             |                            |
| L1                          | 28,6 $\pm$ 0,2 a              | 25,9 $\pm$ 0,1 a            | 24,8 $\pm$ 0,1 a            | 28,0 $\pm$ 0,0 a            | 27,5 $\pm$ 0,1 a           |
| L2                          | 19,8 $\pm$ 0,1 b              | 19,5 $\pm$ 0,1 b            | 19,4 $\pm$ 0,0 b            | 15,9 $\pm$ 0,0 c            | 17,2 $\pm$ 0,2 c           |
| L3                          | 18,9 $\pm$ 0,1 c              | 18,4 $\pm$ 0,1 c            | 18,5 $\pm$ 0,2 c            | 20,3 $\pm$ 0,3 b            | 20,8 $\pm$ 0,2 b           |
| M $\pm$ DP**                | 23 $\pm$ 5 <sup>a</sup>       | 21 $\pm$ 4 <sup>a</sup>     | 21 $\pm$ 3 <sup>a</sup>     | 21 $\pm$ 5 <sup>a</sup>     | 22 $\pm$ 5 <sup>a</sup>    |
| <b>Mortadela de frango</b>  |                               |                             |                             |                             |                            |
| L1                          | 18,9 $\pm$ 0,1 b              | 18,9 $\pm$ 0,1 b            | 18,9 $\pm$ 0,0 b            | 18,5 $\pm$ 0,0 c            | -----                      |
| L2                          | 18,9 $\pm$ 0,0 b              | 18,9 $\pm$ 0,0 b            | 19,1 $\pm$ 0,1 a            | 19,2 $\pm$ 0,1 b            | -----                      |
| L3                          | 19,5 $\pm$ 0,6 a              | 19,5 $\pm$ 0,0 a            | 19,2 $\pm$ 0,1 a            | 19,8 $\pm$ 0,0 a            | -----                      |
| M $\pm$ DP**                | 19,1 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>   | 19,1 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup> | 19,0 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup> | 19,1 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup> | -----                      |
| <b>Mortadela de chester</b> |                               |                             |                             |                             |                            |
| L1                          | 17,4 $\pm$ 0,1 b              | 17,7 $\pm$ 0,0 a            | 17,7 $\pm$ 0,0 b            | 18,2 $\pm$ 0,1 a            | -----                      |
| L2                          | 17,4 $\pm$ 0,0 b              | 17,3 $\pm$ 0,1 b            | 18,0 $\pm$ 0,0 a            | 18,2 $\pm$ 0,0 a            | -----                      |
| L3                          | 18,1 $\pm$ 0,0 a              | 17,6 $\pm$ 0,0 a            | 18,0 $\pm$ 0,0 a            | 16,9 $\pm$ 0,0 b            | -----                      |
| M $\pm$ DP**                | 17,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>   | 17,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup> | 17,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup> | 17,8 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup> | -----                      |

\* Média e estimativa do desvio padrão das determinações em duplicata. \*\* Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata nos diferentes tempos de estocagem. Valores na mesma coluna com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para os lotes. Valores na mesma linha com letras iguais sobrescritas não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para os tempos de estocagem.

Durante o período de armazenamento destes produtos cárneos processados não houve nenhuma alteração significativa nos teores de lipídios totais entre os diferentes tempos de estocagem, sendo de 2,6g/100g para as amostras de jerked beef, 17,5 a 17,9g/100g para a mortadela de chester, 19,1g/100g para a mortadela de frango e 21 a 23g/100g para o salame Italiano.

### 3.3 – Efeito do tempo de estocagem na composição de ácidos graxos

As Tabelas 3, 4, 5 e 6 relacionam os ácidos graxos (% de área) encontrados nas amostras de jerked beef, salame tipo Italiano, mortadela de frango e mortadela de chester, respectivamente, em diferentes tempos de estocagem.

Os principais ácidos graxos encontrados foram C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:0 e C16:1 $\omega$ 7. Em relação aos teores de lipídios totais obtidos nas amostras analisadas, o C16:0, C18:0 e C18:1 $\omega$ 9 foram encontrados em maiores teores nas amostras de salame Italiano, o C16:1 $\omega$ 7 e o C18:2 $\omega$ 6 nas amostras de mortadela de frango. TORRES *et al.* (1989) também encontraram os mesmos ácidos graxos principais em amostras de charque.

Foram encontrados apenas traços dos ácidos graxos minoritários C24:0 e isômero *trans* do ácido graxo C18:2 $\omega$ 6 nas amostras de jerked beef nos tempos zero e 120 dias de estocagem.

O período de armazenamento não alterou a composição de ácidos graxos das amostras analisadas, uma vez que não houve diferença significativa nas porcentagens de áreas dos ácidos graxos e nos teores de lipídios totais entre os diferentes tempos de estocagem analisados.



Tabela 3. Composição de ácidos graxos (% de área) em jerked beef em diferentes tempos de estocagem.

| Ácidos Graxos                 | 0 dias       | 30 dias      | 60 dias      | 90 dias      | 120 dias     |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                               | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      |
| C14:0                         | 2,9 ± 0,7 a  | 2,6 ± 0,1 a  | 2,5 ± 0,2 a  | 2,6 ± 0,2 a  | 2,4 ± 0,4 a  |
| C15:0                         | 2,3 ± 0,2 a  | 2,4 ± 0,3 a  | 2,2 ± 0,1 a  | 2,2 ± 0,2 a  | 2,2 ± 0,4 a  |
| C16:0                         | 24,6 ± 1,3 a | 24,1 ± 0,6 a | 24,6 ± 0,8 a | 24,7 ± 1,3 a | 24,5 ± 1,4 a |
| C17:0                         | 1,3 ± 0,6 a  | 1,2 ± 0,0 a  | 1,3 ± 0,9 a  | 1,2 ± 0,2 a  | 1,1 ± 0,2 a  |
| C18:0                         | 17,5 ± 2,3 a | 17,7 ± 2,0 a | 17,4 ± 2,6 a | 17,6 ± 2,1 a | 17,6 ± 1,0 a |
| C22:0                         | 0,2 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,1 a  |
| C24:0                         | tr           | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | tr           |
| C16:1ω7                       | 4,4 ± 0,2 a  | 3,7 ± 0,4 a  | 3,7 ± 0,2 a  | 3,9 ± 0,5 a  | 3,7 ± 0,3 a  |
| C17:1ω7                       | 1,0 ± 0,1 a  | 0,9 ± 0,1 a  | 1,0 ± 0,1 a  | 1,0 ± 0,1 a  | 0,9 ± 0,1 a  |
| C18:1ω9t                      | 2,3 ± 0,2 a  | 2,1 ± 0,1 a  | 2,1 ± 0,3 a  | 1,9 ± 0,1 a  | 1,8 ± 0,3 a  |
| C18:1ω9                       | 38,4 ± 4,0 a | 38,9 ± 2,8 a | 38,4 ± 3,8 a | 38,7 ± 2,0 a | 38,7 ± 3,3 a |
| C20:1ω11                      | 0,7 ± 0,2 a  | 0,5 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,6 ± 0,2 a  | 0,5 ± 0,1 a  |
| C18:2ω6t**                    | tr           | 0,2 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,1 a  | tr           |
| C18:2ω6                       | 2,8 ± 0,8 a  | 3,4 ± 0,7 a  | 3,5 ± 0,3 a  | 3,5 ± 0,5 a  | 4,0 ± 1,1 a  |
| C18:3ω3                       | 0,4 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,0 a  | 0,9 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,0 a  | 0,9 ± 0,1 a  |
| C20:2ω6                       | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C20:4ω6                       | 0,9 ± 0,3 a  | 1,3 ± 0,1 a  | 1,2 ± 0,2 a  | 0,9 ± 0,3 a  | 1,2 ± 0,1 a  |
| Saturados                     | 51 a         | 51 a         | 51 a         | 51 a         | 50 a         |
| Monoinsaturados               | 45 a         | 44 a         | 43 a         | 44 a         | 44 a         |
| Poliinsaturados               | 4 a          | 5 a          | 6 a          | 5 a          | 6 a          |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,1          | 0,1          | 0,1          | 0,1          | 0,1          |
| Total ω3                      | 0,4          | 0,6          | 0,9          | 0,5          | 0,9          |
| Total ω6                      | 3,9          | 4,9          | 4,9          | 4,6          | 5,5          |
| ω6/ω3                         | 9,7          | 8,2          | 5,4          | 9,2          | 6,1          |

\* Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata.

\*\* (9c, 12t + 9t, 12c); tr = traços

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

Tabela 4. Composição de ácidos graxos (% de área) em salame tipo Italiano em diferentes tempos de estocagem.

| Ácidos Graxos                 | 0 dias       | 30 dias      | 60 dias      | 90 dias      | 120 dias     |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                               | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      |
| C14:0                         | 1,6 ± 0,1 a  | 1,6 ± 0,1 a  | 1,6 ± 0,1 a  | 1,6 ± 0,1 a  | 1,6 ± 0,1 a  |
| C15:0                         | 0,3 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C16:0                         | 24,3 ± 0,6 a | 24,2 ± 1,0 a | 24,6 ± 0,2 a | 24,2 ± 1,0 a | 23,7 ± 0,5 a |
| C17:0                         | 0,6 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,0 a  | 0,6 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,1 a  |
| C18:0                         | 11,6 ± 0,0 a | 11,4 ± 0,4 a | 11,5 ± 0,5 a | 11,5 ± 0,1 a | 11,1 ± 0,4 a |
| C20:0                         | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C24:0                         | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C16:1ω7                       | 2,7 ± 0,1 a  | 3,0 ± 0,1 a  | 2,9 ± 0,1 a  | 3,0 ± 0,6 a  | 3,0 ± 0,4 a  |
| C17:1ω7                       | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,4 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,1 a  |
| C18:1ω9t                      | 0,6 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,0 a  | 0,6 ± 0,1 a  | 0,7 ± 0,2 a  |
| C18:1ω9                       | 41,9 ± 0,8 a | 42,3 ± 0,8 a | 42,5 ± 0,3 a | 42,3 ± 0,1 a | 41,7 ± 0,4 a |
| C20:1ω11                      | 0,7 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,1 a  | 0,7 ± 0,1 a  | 0,7 ± 0,0 a  | 0,7 ± 0,0 a  |
| C18:2ω6                       | 13,5 ± 1,0 a | 13,3 ± 1,2 a | 12,7 ± 0,9 a | 13,0 ± 1,6 a | 14,3 ± 1,5 a |
| C18:3ω3                       | 0,5 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,7 ± 0,1 a  |
| C20:2ω6                       | 0,5 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,1 a  |
| C20:4ω6                       | 0,4 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,1 a  |
| Saturados                     | 39 a         | 39 a         | 39 a         | 39 a         | 38 a         |
| Monoinsaturados               | 46 a         | 46 a         | 47 a         | 46 a         | 46 a         |
| Poliinsaturados               | 15 a         | 15 a         | 14 a         | 15 a         | 16 a         |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,4          | 0,4          | 0,4          | 0,4          | 0,4          |
| Total ω3                      | 0,5          | 0,5          | 0,5          | 0,5          | 0,7          |
| Total ω6                      | 14,4         | 14,2         | 13,6         | 14           | 15,3         |
| ω6/ω3                         | 28,8         | 28,4         | 27,2         | 28           | 21,8         |

\* Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata.

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

Tabela 5. Composição de ácidos graxos (% de área) em mortadela de frango em diferentes tempos de estocagem.

| Ácidos Graxos                 | 0 dias<br>M ± DP* | 30 dias<br>M ± DP* | 60 dias<br>M ± DP* | 90 dias<br>M ± DP* |
|-------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| C14:0                         | 0,8 ± 0,0 a       | 0,8 ± 0,0 a        | 0,8 ± 0,1 a        | 0,8 ± 0,1 a        |
| C15:0                         | 0,2 ± 0,0 a       | 0,3 ± 0,0 a        | 0,3 ± 0,0 a        | 0,3 ± 0,0 a        |
| C16:0                         | 24,1 ± 0,6 a      | 24,2 ± 0,3 a       | 24,0 ± 1,6 a       | 24,4 ± 0,5 a       |
| C17:0                         | 0,3 ± 0,0 a       | 0,2 ± 0,0 a        | 0,3 ± 0,0 a        | 0,3 ± 0,0 a        |
| C18:0                         | 7,0 ± 0,2 a       | 7,0 ± 0,2 a        | 7,0 ± 0,3 a        | 7,0 ± 0,1 a        |
| C20:0                         | 0,1 ± 0,0 a       | 0,1 ± 0,0 a        | 0,1 ± 0,0 a        | 0,1 ± 0,0 a        |
| C22:0                         | 0,1 ± 0,0 a       | 0,1 ± 0,0 a        | 0,1 ± 0,0 a        | 0,1 ± 0,0 a        |
| C24:0                         | 0,1 ± 0,0 a       | 0,1 ± 0,0a         | 0,1 ± 0,0 a        | 0,1 ± 0,0 a        |
| C16:1ω7                       | 4,6 ± 0,1 a       | 4,7 ± 0,2 a        | 4,7 ± 0,6 a        | 4,9 ± 0,3 a        |
| C17:1ω7                       | 0,3 ± 0,0 a       | 0,3 ± 0,1 a        | 0,3 ± 0,1 a        | 0,4 ± 0,1 a        |
| C18:1ω9t                      | 0,2 ± 0,0 a       | 0,2 ± 0,0 a        | 0,2 ± 0,0 a        | 0,2 ± 0,0 a        |
| C18:1ω9                       | 39,3 ± 0,8 a      | 38,7 ± 0,9 a       | 38,7 ± 0,9 a       | 38,6 ± 0,5 a       |
| C20:1ω11                      | 0,4 ± 0,1 a       | 0,4 ± 0,1 a        | 0,4 ± 0,1 a        | 0,4 ± 0,1 a        |
| C18:2ω6                       | 20,7 ± 0,3 a      | 20,8 ± 0,2 a       | 20,9 ± 0,4 a       | 20,5 ± 0,5 a       |
| C18:3ω6                       | 0,2 ± 0,0 a       | 0,2 ± 0,0 a        | 0,2 ± 0,0 a        | 0,2 ± 0,0 a        |
| C18:3ω3                       | 1,1 ± 0,2 a       | 1,2 ± 0,1 a        | 1,1 ± 0,1 a        | 1,2 ± 0,1 a        |
| C20:2ω6                       | 0,2 ± 0,0 a       | 0,2 ± 0,0 a        | 0,2 ± 0,0 a        | 0,2 ± 0,0 a        |
| C20:4ω6                       | 0,4 ± 0,0 a       | 0,4 ± 0,0 a        | 0,5 ± 0,1 a        | 0,5 ± 0,0 a        |
| Saturados                     | 33 a              | 33 a               | 33 a               | 33 a               |
| Monoinsaturados               | 44 a              | 44 a               | 44 a               | 44 a               |
| Poliinsaturados               | 23 a              | 23 a               | 23 a               | 23 a               |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,7               | 0,7                | 0,7                | 0,7                |
| Total ω3                      | 1,0               | 1,2                | 1,1                | 1,2                |
| Total ω6                      | 21,5              | 21,7               | 21,8               | 21,4               |
| ω6/ω3                         | 21,5              | 18,1               | 19,8               | 17,8               |

\* Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata.

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

Tabela 6. Composição de ácidos graxos (% de área) em mortadela de chester em diferentes tempos de estocagem.

| Ácidos Graxos                 | 0 dias       | 30 dias      | 60 dias      | 90 dias      |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                               | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      |
| C14:0                         | 0,6 ± 0,0 a  | 0,6 ± 0,0 a  | 0,6 ± 0,0 a  | 0,7 ± 0,1 a  |
| C15:0                         | 0,2 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,0 a  |
| C16:0                         | 24,1 ± 0,2 a | 24,3 ± 0,6 a | 24,1 ± 0,4 a | 24,4 ± 0,0 a |
| C17:0                         | 0,2 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,1 a  |
| C18:0                         | 5,9 ± 0,1 a  | 5,9 ± 0,2 a  | 5,9 ± 0,1 a  | 5,9 ± 0,1 a  |
| C24:0                         | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C16:1ω7                       | 5,2 ± 0,2 a  | 5,2 ± 0,3 a  | 5,2 ± 0,1 a  | 5,2 ± 0,1 a  |
| C17:1ω7                       | 0,3 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,0 a  |
| C18:1ω9t                      | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C18:1ω9                       | 37,1 ± 0,4 a | 36,9 ± 0,5 a | 36,9 ± 0,5 a | 36,5 ± 0,8 a |
| C20:1ω11                      | 0,2 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,1 a  |
| C18:2ω6                       | 23,7 ± 0,4 a | 23,6 ± 0,4 a | 23,6 ± 0,2 a | 23,6 ± 0,2 a |
| C18:3ω6                       | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C18:3ω3                       | 1,3 ± 0,0 a  | 1,3 ± 0,0 a  | 1,4 ± 0,1 a  | 1,4 ± 0,1 a  |
| C20:2ω6                       | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C20:4ω6                       | 0,5 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,0 a  | 0,5 ± 0,0 a  |
| Saturados                     | 31 a         | 32 a         | 31 a         | 32 a         |
| Monoinsaturados               | 43 a         | 43 a         | 43 a         | 42 a         |
| Poliinsaturados               | 26 a         | 26 a         | 26 a         | 26 a         |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,8          | 0,8          | 0,8          | 0,8          |
| Total ω3                      | 1,3          | 1,3          | 1,4          | 1,4          |
| Total ω6                      | 24,6         | 24,4         | 24,4         | 24,5         |
| ω6/ω3                         | 18,9         | 18,8         | 17,4         | 17,5         |

\* Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata.

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

As amostras de jerked beef apresentaram menor concentração de ácidos graxos saturados (1,3g/100g de amostra) e as amostras de salame Italiano apresentaram maior (8,4g/100g de amostra), sendo o ácido graxo C16:0 encontrado em maior concentração, seguido do C18:0.

O teor de ácidos graxos monoinsaturados foi maior nas amostras de salame Italiano, sendo aproximadamente 10g/100g de amostra. O ácido graxo encontrado em maior quantidade foi o C18:1 $\omega$ 9, seguido do C16:1 $\omega$ 7.

A concentração de ácidos graxos poliinsaturados totais foi maior nas amostras de mortadela de chester (4,6g/100g de amostra), sendo o C18:2 $\omega$ 6 o ácido graxo encontrado em maior quantidade.

O teor de ácidos graxos  $\omega$ 3 variou de 0,01 nas amostras de jerked beef a 0,2g/100g de amostra nas amostras de mortadela de frango e de chester, sendo encontrado somente o ácido graxo C18:3 $\omega$ 3.

A razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e saturados, encontrada no presente trabalho, foi menor no jerked beef (0,1) e maior na mortadela de chester (0,8). A razão  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 foi menor nas amostras de jerked beef (5,4) e maior nas amostras de salame (28,8).

TORRES *et al.* (1989) encontraram porcentagens de áreas de ácidos graxos saturados em amostras de charque variando de 46% no tempo zero a 54% no final de 60 dias de armazenamento, sendo maiores que as porcentagens de áreas obtidas no presente trabalho (51%). As porcentagens de áreas de ácidos graxos monoinsaturados determinadas por TORRES *et al.* (1989) variaram significativamente entre os tempos zero (47%) e 60 dias (39%) de armazenamento e obtiveram as mesmas porcentagens de ácidos graxos poliinsaturados durante o período de armazenamento (7%).

No que tange às implicações nutricionais dos resultados obtidos no presente trabalho, o jerked beef foi o único produto cárneo processado que apresentou valores de lipídios totais abaixo de 5g/100g e pode então ser considerado alimento de baixa gordura de acordo com a classificação do FOOD ADVISORY COMMITTEE da Inglaterra (1990). O teor de colesterol variou de 40 no jerked beef a 57mg/100g no salame Italiano estando abaixo do valor máximo

recomendado de 300mg de colesterol/dia (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2003). A razão de ácidos graxos poliinsaturados/saturados das amostras analisadas de mortadela de frango (0,7) e de chester (0,8) foi maior que o valor mínimo recomendado de 0,45, segundo o BRITISH DEPARTMENT OF HEALTH (1994) para a dieta total. A razão  $\omega 6/\omega 3$  variou de 5,4 no jerked beef a 28,8 no salame Italiano, estando acima do valor máximo recomendado de 4 para a dieta como um todo, principalmente para salame, mortadela de frango e de chester. Estas deficiências devem ser compensadas com outros componentes da dieta.

## 4 – CONCLUSÃO

O período de estocagem das amostras de produtos cárneos processados, analisadas no presente trabalho, não alterou os teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos das mesmas, e não houve formação de óxidos de colesterol durante o tempo de armazenamento.

## 5 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte e apoio financeiro.

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Dietary Guidelines for Healthy American Adults**, (<http://www.americanheart.org/Heart-and-Stroke-A-Z-guide/dietg.html>), 2003.

BAGGIO, S. R. & BRAGAGNOLO, N. Validação da metodologia para determinação simultânea, por CLAE, de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, **24 (1)**: 64-70, 2004.

BÖSSINGUER, S.; LUF, W. & BRANDL, E. Oxysterols: Their occurrence and biological effects. **Int. Dairy J.**, **3**: 1-33, 1993.

DEPARTMENT OF HEALTH. 1994. **Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease**. Report on Health and Social Subjects n° 46. London.

FOLCH, J. LESS, M. & STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, **226**: 497-509, 1957.

FOOD ADVISORY COMMITTEE. 1990. **Report on review of food labelling and advertising**. London.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Pract.**, **22**: 475-481, 1973.

LAMBERTSON, G. *Trans* fatty acids topic for Lipidforum. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **3**: 196-197, 1992.

LARKESON, B.; DUTTA, P. C. & HANSSON, I. Effects of frying and storage on cholesterol oxidation in minced meat products. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **77**: 675-680, 2000.

PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D. & GERMAN, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **J. Food Sci.**, **60**: 1159-1174, 1995.

RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; BERTACCO, G. & LERCKER, G. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburguers. **Meat Sci.**, **45**: 365-375, 1997.

SANDER, B. D.; ADDIS, P. B.; PARK, S. W. & SMITH, D. E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. **J. Food Prot.**, **52**: 109-114, 1989.

SAVAGE, G. P.; DUTTA, P. C. & RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T. Cholesterol oxides: their occurrence and methods to prevent their generation in foods. **J. Clin. Nutr.**, **11(1)**: 72-78, 2002.

TAI, C. Y.; CHEN, Y. C. & CHEN, B. H. Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: An overview (Part I). **J. Food Drug Anal.**, **7 (4)**: 243-258, 1999.

TORRES, E.; PEARSON, A. M.; GRAY, J. L.; KU, P. K. Lipid oxidation in charqui (salted and dried beef). **Food Chem.**, **32**: 257-268, 1989.



## **CAPÍTULO 7**

### **EFEITO DO PREPARO TÉRMICO SOBRE OS ÓXIDOS DE COLESTEROL, COLESTEROL, LIPÍDIOS TOTAIS E ÁCIDOS GRAXOS EM PRODUTOS CÁRNEOS PROCESSADOS**

---

## RESUMO

O preparo térmico de carnes e seus produtos processados podem levar à formação de óxidos de colesterol, uma vez que o tempo e a temperatura empregados são fatores determinantes neste processo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do preparo térmico na formação de óxidos de colesterol e alteração da composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados. A determinação de óxidos de colesterol e colesterol foi realizada por CLAE, segundo BAGGIO & BRAGAGNOLO (2004). A composição de ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa com coluna capilar CP-SIL 88 (50 x 0,25mm; 0,20µm). Foram analisados os seguintes produtos cárneos processados: almôndegas e hambúrguer (bovinos), lingüiça toscana (suína), salsicha “hot-dog” (composição mista), salsicha e lingüiça (frango e chester) e hambúrguer (chester). As amostras foram analisadas imediatamente após a aquisição e o preparo térmico das mesmas. Não houve formação de nenhum óxido de colesterol com o preparo térmico das amostras. Apenas os teores de colesterol entre a lingüiça suína crua e grelhada e entre o hambúrguer de chester cru e grelhado foram significativamente menores nas amostras grelhadas, assim como os teores de lipídios totais entre o hambúrguer bovino cru e grelhado. A composição de ácidos graxos, quando calculada em g/100g de amostra, apresentou alterações somente entre as amostras de hambúrguer bovino cru e grelhado.

## SUMMARY

Heat preparation of meat and meat products can lead to the formation of cholesterol oxides, since the time and temperature used are determinant factors in this process. The objective of this study was to evaluate the effect of heat preparation on the formation of cholesterol oxides and on alterations in the fatty acid composition of processed meat products. Cholesterol oxides and cholesterol were determined by HPLC according to BAGGIO & BRAGAGNOLO (2004). The fatty acid composition was determined by gas chromatography using a CP-SIL 88 capillary column (50 x 0.25mm; 0.20µm). The following processed meat products were analyzed: meat balls and hamburger (beef), toscana sausage (pork), frankfurter (mixed composition), frankfurter and sausage (chicken and chester) and hamburger (chester). The samples were analyzed immediately after their purchase and after heat preparation. There was no cholesterol oxide formation due to the heat preparation of the samples analyzed. Only the cholesterol levels were significantly lower when comparing the raw and grilled pork sausage and the raw and grilled chester hamburger, the values being lower in the grilled samples, as also the total lipid contents between the raw and grilled beef hamburgers.

## 1 – INTRODUÇÃO

Durante os estágios de produção, manipulação, estocagem e preparo térmico das carnes e seus produtos processados pode ocorrer a formação de óxidos de colesterol e alteração da composição dos ácidos graxos. A geração dos produtos da oxidação do colesterol em alimentos industrializados é influenciada por muitos fatores, como o contato com ar/oxigênio, grau de insaturação dos triglicerídeos co-existent, temperatura utilizada durante o processamento, exposição à luz, presença de íons metálicos, técnicas de embalagem e condições de armazenamento (SARANTINOS *et al.*, 1993; PANIANGVAIT *et al.*, 1995; RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.*, 1997).

A composição dos ácidos graxos dos alimentos também pode ser alterada pela autooxidação, afetando especialmente aqueles com insaturações (Li *et al.*, 1994). Candela *et al.* (1996) encontraram diferenças no perfil dos ácidos graxos de carnes quando fritas com óleo de girassol, elevando a razão dos ácidos graxos poliinsaturados/saturados. Este aumento é interessante sob o ponto de vista nutricional desde que o British Department of Health (1994) recomenda no mínimo uma razão de ácidos graxos poliinsaturados/saturados de 0,45 para a dieta como um todo. Atualmente, nutricionistas tem focado o tipo de ácido graxo poliinsaturado e o balanço entre n6/n3 na dieta. A razão ideal é em torno de 4:1 (Schaefer, 2002).

Alguns estudos avaliaram o efeito do preparo térmico em carnes e seus produtos processados na formação de óxidos de colesterol, sugerindo que o tempo e a temperatura são fatores determinantes neste processo, influenciando diretamente a taxa de oxidação (PIE *et al.*, 1991; MORGAN & ARMSTRONG, 1992; OSADA, *et al.*, 1993a; KESAVA-RAO *et al.*, 1996).

A presença dos produtos da oxidação do colesterol na dieta é preocupante, pois apresentam vários efeitos adversos à saúde humana (IMAI *et al.*, 1976; TAYLOR *et al.*, 1979). Os óxidos de colesterol são considerados agentes mais prejudiciais que o próprio colesterol na formação de placas ateroscleróticas, bem

como mutagênicos, carcinogênicos e citotóxicos (SEVANI & PETERSON, 1986; KUBOW, 1990; GUARDIOLA *et al.*, 1996).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do preparo térmico na formação de óxidos de colesterol e alteração na composição de ácidos graxos em produtos cárneos processados bovinos, suínos, mistos, de frango e de chester.

## **2 – MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 – Material**

Foram analisados produtos processados de carne bovina (almôndegas e hambúrguer), de carne suína (lingüiça toscana), produto cárneo processado de composição cárnea mista (salsicha “hot-dog”), produtos processados de carne de frango (salsicha e lingüiça) e de carne de chester (salsicha, lingüiça e hambúrguer). Para cada um destes produtos foram analisados três lotes com diferentes datas de validade. Cada lote foi composto por seis unidades, sendo três unidades analisadas cruas e três cozidas.

O preparo das almôndegas foi realizado conforme as instruções contidas na embalagem do produto para forno convencional a gás. O forno foi pré-aquecido a uma temperatura de 250°C, as almôndegas congeladas foram colocadas no forno em uma assadeira de alumínio levemente untada com óleo de soja por 20 minutos. Após 10 minutos a temperatura do forno foi diminuída para 203°C e no final dos 20 minutos estava em 208°C. Antes de retirar as almôndegas do forno, verificou-se a temperatura interna das mesmas, sendo esta de 92°C.

Os hambúrguers congelados foram retirados de suas embalagens originais e foram grelhados em uma chapa a uma temperatura inicial de 165°C. Cada lado dos hambúrguers foi grelhado por 4 minutos, conforme instruções de preparo contidas na embalagem. A temperatura interna final dos mesmos foi de 98°C.

As amostras de lingüiça toscana foram grelhadas em uma grelha por 30 minutos, até a temperatura interna atingir 94<sup>0</sup>C. As lingüiças de frango e de chester foram preparadas conforme uma das instruções contidas na embalagem para forno convencional a gás. O forno foi pré aquecido a uma temperatura de 240<sup>0</sup>C, enfiou-se as lingüiças assando-as por 25 minutos. Após 10 minutos das lingüiças enfiadas, a temperatura do forno diminuiu para 205<sup>0</sup>C e no final dos 25 minutos estava em 215<sup>0</sup>C. Antes de retirar as lingüiças do forno, verificou-se a temperatura interna das mesmas, sendo de 95<sup>0</sup>C.

As salsichas foram retiradas de suas embalagens originais e cozidas em água destilada a 98<sup>0</sup>C numa panela comum por cerca de 10 minutos, atingindo uma temperatura interna final de 96<sup>0</sup>C.

As temperaturas foram monitoradas com o uso de um Termopar de imersão, marca KANE-MAV, modelo Tipo K, aferido.

Estes produtos foram adquiridos em supermercados de Campinas. As amostras foram analisadas imediatamente após a aquisição e o preparo térmico das mesmas. Os produtos processados foram integralmente triturados e homogeneizados em multiprocessador até obtenção de uma massa homogênea. Alíquotas de 50g foram tomadas para análises em duplicata.

## 2.2 – Métodos

A extração dos lipídios foi realizada como descrito por FOLCH *et al.* (1957), a umidade segundo a AOAC (1990) e o fator de retenção aparente de acordo com MURPHY *et al.* (1995).

Alíquotas do extrato lipídico foram tomadas para a determinação de lipídios totais, por pesagem após a evaporação do solvente; óxidos de colesterol e colesterol, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); e, a composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa.

### 2.2.1 – Determinação simultânea de óxidos de colesterol e colesterol

Alíquotas do extrato lipídico foram secas em evaporador rotatório, saponificadas a frio e a matéria insaponificável foi extraída com éter etílico (SANDER *et al.*, 1989).

Utilizou-se um cromatógrafo líquido (Shimadzu) com sistema quaternário de solventes (LC-10ATVP); válvula "Rheodyne" com alça de amostragem de 20µL; forno de coluna (CTO-10ASVP); coluna de guarda Hypersil BDS CN (7,5 x 4,6mm, 5µm); coluna Nova Pak CN HP (300 x 3,9mm, 4µm); temperatura da coluna de 32°C; fase móvel composta de hexano/isopropanol (96+4) com vazão de 1,0mL/min; detector por conjunto de diodos (SPD-M10AVP); detector por índice de refração (RID-10A) e software (CLASS-VP). Os espectros de absorbância foram tirados entre 200 e 400nm e os cromatogramas foram registrados a 210nm.

O colesterol e os óxidos de colesterol: colest-4,6-dien-3-ona, 20α-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-cetocolesterol, 5,6α-epoxicolesterol, 5,6β-epoxicolesterol, e 7β-hidroxicolesterol foram adquiridos da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). O 7α-hidroxicolesterol foi obtido da Steraloids Inc. (Wilton, EUA).

Todos os solventes usados para a extração e preparo da amostra foram de grau analítico e para análise cromatográfica de grau cromatográfico, os quais foram filtrados em filtro Millipore (0,45µm) e degaseificados em ultra-som antes do uso.

A identificação dos picos do colesterol e dos óxidos de colesterol foi feita por comparação dos tempos de retenção do padrão e o da amostra, por co-cromatografia e espectros de absorbância.

A quantificação do colesterol e de seus produtos da oxidação foi feita por padronização externa. O colesterol foi quantificado pelo detector por índice de refração, por estar mais separado dos interferentes. O 7-cetocolesterol foi quantificado pelo detector por conjunto de diodos.

### 2.2.2 – Determinação da composição de ácidos graxos

Para a análise dos ácidos graxos, uma alíquota do extrato lipídico contendo aproximadamente 100mg de lipídios, foi seca em evaporador rotatório. A transesterificação foi realizada de acordo com o método de HARTMAN & LAGO (1973), usando solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol como agente esterificante.

A cromatografia gasosa, para a análise de ácidos graxos, foi realizada em cromatógrafo KONIK, modelo HRCG 4000A, equipado com: injetor split, razão 75:1; coluna capilar CP-SIL 88, 50m de comprimento x 0,25mm de diâmetro interno e contendo 0,20µm de polietilenoglicol; detector por ionização em chama e uma workstation com software BORWIN. As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna programada, temperatura inicial 180°C/2min, elevando-se para 225°C numa escala de 5°C/min, permanecendo nesta temperatura por 15 minutos; gás de arraste, hidrogênio numa vazão de 0,5mL/min; gás “make-up”, nitrogênio a 30mL/min; temperatura do injetor, 270°C; e temperatura do detector, 300°C.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras e padrões e co-cromatografia. Foram utilizados no total 36 padrões de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). A quantificação foi realizada por normalização de área e os resultados foram expressos em porcentagem de área.

### 2.2.3 – Análise estatística

Para verificar a influência do preparo térmico nas amostras, os resultados obtidos para colesterol, lipídios totais e ácidos graxos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a nível de 5%.



---

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os resultados de umidade, colesterol e lipídios totais dos produtos cárneos processados analisados crus e submetidos aos preparos térmicos.

Os teores de colesterol e lipídios totais, na base úmida, das amostras de salsicha “hot-dog”, salsicha de frango e salsicha de chester foram menores nas amostras cozidas, havendo absorção de água do meio com diluição dos constituintes. Enquanto que, nas demais amostras, estes teores foram sempre maiores nas amostras assadas e grelhadas, devido a perda de água durante o tratamento térmico e, conseqüentemente, o aumento da concentração destes compostos.

Os teores de colesterol, na base seca, apresentaram diferença significativa apenas entre a lingüiça suína crua e grelhada e entre o hambúrguer de chester cru e grelhado, sendo menor nas amostras grelhadas. Os teores de colesterol foram sempre maiores nas amostras cruas, embora não significativamente diferentes. A retenção aparente do colesterol variou de 85% para o hambúrguer bovino grelhado a 99% para a salsicha “hot-dog” cozida.

Na base seca, os teores de lipídios totais apresentaram diferença significativa apenas entre o hambúrguer bovino cru e grelhado, sendo que o hambúrguer grelhado apresentou teores de lipídios totais menores. Nas demais amostras, os teores de lipídios totais foram sempre menores nas amostras assadas, grelhadas e cozidas, embora não significativamente diferentes. A retenção aparente dos lipídios totais variou de 79% para o hambúrguer bovino grelhado a 99% para as salsichas “hot-dog” e de carne de frango cozidas.

Tabela 1. Teores de umidade (g/100g), colesterol (mg/100g) e lipídios totais (g/100g) em produtos cárneos processados crus e submetidos aos preparos térmicos.

| Produtos      | Umidade      | Colesterol    |                | Lipídios Totais |              |
|---------------|--------------|---------------|----------------|-----------------|--------------|
|               |              | Base Úmida    | Base Seca      | Base Úmida      | Base Seca    |
| Cárneos       | M ± DP*      | M ± DP*       | M ± DP*        | M ± DP*         | M ± DP*      |
| Bovino        |              |               |                |                 |              |
| Almôndega     |              |               |                |                 |              |
| crua          | 63,5 ± 0,6 a | 25,7 ± 0,4 b  | 70,4 ± 1,2 a   | 9,8 ± 0,8 a     | 26,9 ± 2,0 a |
| assada        | 58,6 ± 0,5 b | 27,8 ± 0,6 a  | 67,0 ± 2,1 a   | 10,2 ± 0,7 a    | 24,5 ± 1,6 a |
| Hambúrguer    |              |               |                |                 |              |
| cru           | 66,0 ± 2,0 a | 30,0 ± 0,1 b  | 89,7 ± 6,5 a   | 10,9 ± 1,6 a    | 32,2 ± 3,6 a |
| grelhado      | 55,0 ± 5,0 b | 34,4 ± 3,1 a  | 76,5 ± 11,4 a  | 11,6 ± 1,6 a    | 25,5 ± 1,1 b |
| Suíno         |              |               |                |                 |              |
| Lingüiça crua | 55,6 ± 2,3 a | 36,7 ± 0,3 b  | 82,8 ± 4,7 a   | 25,9 ± 3,0 b    | 58,1 ± 4,6 a |
| grelhada      | 37,0 ± 0,5 b | 45,8 ± 2,2 a  | 72,7 ± 3,5 b   | 31,9 ± 1,5 a    | 50,7 ± 2,8 a |
| Misto         |              |               |                |                 |              |
| Salsicha      | “hot-dog”    |               |                |                 |              |
| crua          | 60,3 ± 0,8 b | 45,9 ± 11,4 a | 115,3 ± 30,1 a | 15,0 ± 0,5 a    | 37,8 ± 2,2 a |
| cozida        | 61,9 ± 1,5 a | 43,7 ± 11,4 a | 113,8 ± 29,2 a | 14,2 ± 0,3 b    | 37,3 ± 1,8 a |
| Frango        |              |               |                |                 |              |
| Salsicha crua | 61,4 ± 0,9 b | 61,9 ± 3,5 a  | 160,7 ± 12,5 a | 13,7 ± 0,5 a    | 35,5 ± 1,1 a |
| cozida        | 62,6 ± 0,6 a | 58,2 ± 1,7 b  | 155,3 ± 5,5 a  | 13,2 ± 0,5 a    | 35,2 ± 1,2 a |
| Lingüiça crua | 71,2 ± 1,0 a | 45,0 ± 1,8 a  | 156,5 ± 9,0 a  | 11,4 ± 0,7 a    | 39,7 ± 3,3 a |
| assada        | 66,6 ± 1,2 b | 46,3 ± 0,9 a  | 138,8 ± 3,4 a  | 12,3 ± 0,7 a    | 36,8 ± 2,5 a |
| Chester       |              |               |                |                 |              |
| Salsicha crua | 67,9 ± 0,8 a | 63,1 ± 4,2 a  | 196,5 ± 12,8 a | 8,4 ± 0,8 a     | 26,1 ± 2,0 a |
| cozida        | 68,4 ± 0,9 a | 60,6 ± 4,8 a  | 191,6 ± 13,4 a | 7,9 ± 0,6 a     | 25,1 ± 1,6 a |
| Hambúrguer    |              |               |                |                 |              |
| cru           | 68,7 ± 0,2 a | 31,0 ± 1,3 a  | 99,0 ± 4,0 a   | 9,7 ± 0,9 b     | 31,0 ± 3,2 a |
| grelhado      | 59,0 ± 1,4 b | 36,4 ± 0,7 a  | 88,8 ± 2,1 b   | 11,3 ± 1,0 a    | 27,5 ± 2,1 a |
| Lingüiça crua | 65,5 ± 0,4 a | 40,4 ± 1,3 a  | 117,1 ± 4,6 a  | 13,5 ± 0,1 b    | 39,1 ± 0,5 a |
| assada        | 61,9 ± 0,4 b | 42,4 ± 2,6 a  | 111,5 ± 8,2 a  | 14,6 ± 0,4 a    | 38,4 ± 1,0 a |

\*Média e estimativa de desvio padrão de três amostras em duplicata.

Valores na mesma coluna com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% para as amostras cruas e assadas ou cruas e cozidas ou cruas e grelhadas.

Durante o tratamento térmico de alimentos, pode-se observar tanto a absorção de materiais do meio, como a perda de componentes do produto por eliminação, evaporação ou eluição. 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). Assim, podem ocorrer diferenças nos teores de colesterol, óxidos de colesterol, lipídios totais e composição de ácidos graxos entre os alimentos crus e preparados termicamente.

Não foi encontrado nenhum óxido de colesterol nas amostras de produtos cárneos processados analisados crus e após o preparo térmico. No presente estudo o tempo de preparo térmico das amostras variou de 8 a 30 minutos, tempos normalmente usados para o cozimento destes produtos. Todos os produtos cárneos processados analisados contêm na sua composição antioxidantes que podem ter exercido proteção em relação à oxidação do colesterol. Portanto, supõe-se que, o curto período de aquecimento dos produtos cárneos processados, analisados no presente trabalho, com a presença de antioxidantes, podem ter evitado a oxidação do colesterol.

RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.* (1997) verificaram que houve diminuição na concentração de 7-cetocolesterol livre e total, quando hambúrguers crus foram submetidos a diferentes tratamentos térmicos (assado, grelhado, microondas, microondas + assado, fervura e frito).

Em outros estudos que também reproduziram o preparo tradicional de alguns alimentos, ao contrário do que se foi observado no presente trabalho, foi relatado a formação de óxidos de colesterol durante o preparo térmico, mesmo quando o tempo de aquecimento era reduzido.

HIGLEY *et al.* (1986) obtiveram 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol em salsicha cozida (1640 $\mu$ g/g) e hambúrguer cozido (72 $\mu$ g/g), 7 $\beta$ -hidroxicolesterol em hambúrguer cru (3,6 $\mu$ g/g), traços de 7-cetocolesterol em salsicha e hambúrguer crus e cozidos, colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol em salsichas cozidas (1335 $\mu$ g/g) e hambúrguer cru (1298 $\mu$ g/g), 5-colesten-3 $\beta$ -ol-22-one em salsicha cozida (1869 $\mu$ g/g), hambúrguer cru (210 $\mu$ g/g) e bacon cozido (668 $\mu$ g/g).

LARKESON *et al.* (2000) obtiveram aumento do teor de óxidos de colesterol totais em amostras de almôndegas (50% carne bovina + 50% carne suína) e hambúrguer bovino submetidas à fritura em frigideira com gordura numa temperatura de 150 a 160°C. O teor de óxidos de colesterol totais entre as amostras de almôndegas cruas e fritas variou de 3,3 a 10,4µg/g, e entre as amostras de hambúrguer esta variação foi de 5,5 a 6,7µg/g.

As Tabelas 2 a 6 relacionam as composições de ácidos graxos (% de área) encontradas nas amostras cruas e submetidas aos preparos térmicos, sendo almôndega e hambúrguer bovinos (Tabela 2), lingüiça toscana e salsicha “hot-dog” (Tabela 3), salsichas de carne de frango e de chester (Tabela 4), lingüiças de carne de frango e de chester (Tabela 5) e hambúrguer de carne de chester (Tabela 6).

Os principais ácidos graxos encontrados, em ordem decrescente, nas amostras de lingüiça toscana; salsicha “hot-dog”; lingüiça de frango; hambúrguer e lingüiça de chester foram: C18:1ω9, C16:0, C18:2ω6, C18:0 e C16:1ω7, enquanto que as amostras de almôndegas e hambúrguer bovinos tiveram como ácidos graxos principais C18:1ω9, C16:0, C18:0, C18:2ω6 e C18:1ω9t.

Considerando os teores de lipídios totais obtidos nas amostras analisadas, os ácidos graxos C18:1ω9 (23,8g/100g de amostra), C16:0 (14,9g/100g de amostra) e C18:0 (6,6g/100g de amostra) foram encontrados em maiores concentrações nas amostras de lingüiça toscana, o C18:2ω6 (9,4g/100g de amostra) nas amostras de salsicha “hot-dog” e salsicha de frango, o C16:1ω7 (2g/100g de amostra) nas amostras de lingüiça de frango e o C18:1ω9t (1,6g/100g de amostra) nas amostras de almôndegas bovinas.

Calculando os teores de ácidos graxos em relação à quantidade de lipídios totais, na base seca, presente nas amostras analisadas, observou-se que não houve diferença significativa entre as amostras cruas e submetidas ao preparo térmico, com exceção do hambúrguer bovino, que foi significativamente menor nas amostras grelhadas.

As amostras de lingüiça toscana grelhada apresentaram teores maiores de ácidos graxos saturados (19,8g/100g de amostra) e monoinsaturados (22,8g/100g

de amostra). Estes teores foram menores nas amostras de salsicha de chester cozida, sendo 8g/100g de amostra para os ácidos graxos saturados e 10,3g/100g de amostra para os ácidos graxos monoinsaturados.

A concentração de ácidos graxos poliinsaturados totais foi menor nas amostras de hambúrguer bovino grelhado (3,1g/100g de amostra) e maior na salsicha de frango cozida (10,6g/100g de amostra), sendo o ácido graxo C18:2 $\omega$ 6 encontrado em maior quantidade.

O único ácido graxo  $\omega$ 3 encontrado foi o C18:3 $\omega$ 3, sendo maior nas amostras de salsicha de frango (0,7g/100g de amostra) e menor no hambúrguer bovino grelhado (0,1g/100g de amostra).

A razão entre os ácidos graxos poliinsaturados e saturados, encontrada no presente trabalho, foi menor nas amostras de hambúrguer bovino (0,25) e maior nas amostras de salsicha de frango (1,0). A razão  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 variou de 13,7 na salsicha de frango crua a 25,8 na lingüiça toscana grelhada.

O ácido graxo isômero *trans* C18:1 $\omega$ 9 foi encontrado em todas as amostras analisadas, variando de 0,02g/100g de amostra na salsicha de chester a 1,6g/100g de amostra nas almôndegas bovinas. O C18:2 $\omega$ 6*t* foi detectado somente nas amostras de almôndegas e hambúrguer bovinos (0,3g/100g de amostra).

Os maiores teores de C18:1 $\omega$ 9*t* encontrados nas amostras de almôndegas e hambúrguer podem ser atribuídos à presença de gordura hidrogenada em suas formulações.

Em gorduras de origem animal, os isômeros *trans* são componentes naturais, sendo formados através da biohidrogenação pela ação de enzimas da microbiota presente no rúmen de animais poligástricos, incluindo as isomerases e as hidrogenases (SMITH *et al.*, 1978). A quantidade de ácidos graxos *trans* em carnes de animais não ruminantes é geralmente baixa e depende da presença de ácidos graxos *trans* nas rações (ARO *et al.*, 1998).

Tabela 2. Composição de ácidos graxos (% de área) em almôndega crua e assada e hambúrguer cru e grelhado de carne bovina.

| Ácidos Graxos                 | ALCR         | ALAS         | HACR         | HAGR         |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                               | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      |
| C14:0                         | 2,1 ± 0,1 a  | 2,1 ± 0,1 a  | 2,4 ± 0,2 a  | 2,4 ± 0,3 a  |
| C15:0                         | 1,1 ± 0,1 a  | 1,1 ± 0,1 a  | 1,0 ± 0,2 a  | 1,0 ± 0,2 a  |
| C16:0                         | 23,5 ± 0,5 a | 23,4 ± 0,3 a | 22,8 ± 0,3 a | 22,7 ± 0,2 a |
| C17:0                         | 0,8 ± 0,1 a  | 0,8 ± 0,1 a  | 1,0 ± 0,0 a  | 1,0 ± 0,1 a  |
| C18:0                         | 12,6 ± 0,3 a | 12,6 ± 0,9 a | 15,1 ± 0,5 a | 15,0 ± 0,5 a |
| C20:0                         | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C21:0                         | nd           | nd           | 0,4 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,0 a  |
| C16:1ω7                       | 2,9 ± 0,3 a  | 2,9 ± 0,4 a  | 3,5 ± 0,4 a  | 3,5 ± 0,5 a  |
| C17:1ω7                       | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,1 a  |
| C18:1ω9t                      | 5,9 ± 0,4 a  | 5,9 ± 0,7 a  | 3,6 ± 0,1 a  | 3,7 ± 0,0 a  |
| C18:1ω9                       | 34,6 ± 1,5 a | 34,5 ± 2,9 a | 36,2 ± 0,8 a | 36,1 ± 1,9 a |
| C20:1ω11                      | 0,6 ± 0,3 a  | 0,7 ± 0,1 a  | 0,4 ± 0,1 a  | 0,4 ± 0,3 a  |
| C18:2ω6 t**                   | 1,1 ± 0,4 a  | 1,1 ± 0,2 a  | 1,2 ± 0,1 a  | 1,2 ± 0,2 a  |
| C18:2ω6                       | 13,0 ± 1,1 a | 13,3 ± 0,8 a | 11,0 ± 1,9 a | 11,3 ± 2,2 a |
| C18:3ω6                       | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C18:3ω3                       | 0,8 ± 0,1 a  | 0,8 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,2 a  |
| C20:4ω6                       | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| Saturados                     | 47 a         | 47 a         | 48 a         | 48 a         |
| Monoinsaturados               | 39 a         | 39 a         | 40 a         | 40 a         |
| Poliinsaturados               | 14 a         | 14 a         | 12 a         | 12 a         |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,3          | 0,3          | 0,25         | 0,25         |
| Total ω3                      | 0,8          | 0,8          | 0,5          | 0,5          |
| Total ω6                      | 13,3         | 13,6         | 11,3         | 11,6         |
| ω6/ω3                         | 16,6         | 17,0         | 22,6         | 23,2         |

ALCR = almôndega crua; ALAS = almôndega assada; HACR = hambúrguer cru; HAGR = hambúrguer grelhado; \*Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata; \*\* (9c, 12t + 9t, 12c); nd = não detectado; Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% entre as amostras cruas e submetidas ao preparo térmico.

Tabela 3. Composição de ácidos graxos (% de área) em lingüiça toscana crua e grelhada e salsicha “hot-dog” crua e cozida.

| Ácidos Graxos                 | LTGR         | LTGR         | SHDCR        | SHDCZ        |
|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                               | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      | M ± DP*      |
| C14:0                         | 1,6 ± 0,0 a  | 1,4 ± 0,1 a  | 0,7 ± 0,0 a  | 0,6 ± 0,0 a  |
| C15:0                         | 0,1 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,1 a  |
| C16:0                         | 25,6 ± 0,9 a | 25,0 ± 0,4 a | 25,4 ± 2,0 a | 23,6 ± 2,3 a |
| C17:0                         | 0,4 ± 0,1 a  | 0,4 ± 0,0 a  | 0,3 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,0 a  |
| C18:0                         | 11,4 ± 0,7 a | 11,4 ± 0,8 a | 6,0 ± 0,2 a  | 6,4 ± 0,2 a  |
| C20:0                         | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C24:0                         | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C16:1ω7                       | 2,5 ± 0,2 a  | 2,5 ± 0,2 a  | 4,7 ± 0,5 a  | 4,5 ± 0,4 a  |
| C17:1ω7                       | 0,4 ± 0,1 a  | 0,4 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C18:1ω9t                      | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  | 0,1 ± 0,0 a  |
| C18:1ω9                       | 41,0 ± 1,1 a | 41,5 ± 1,5 a | 35,2 ± 1,3 a | 35,8 ± 0,9 a |
| C20:1ω11                      | 0,7 ± 0,1 a  | 0,7 ± 0,1 a  | 0,2 ± 0,1 a  | 0,3 ± 0,0 a  |
| C18:2ω6                       | 14,4 ± 1,7 a | 14,5 ± 1,9 a | 24,5 ± 1,2 a | 25,4 ± 1,1 a |
| C18:3ω6                       | nd           | nd           | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C18:3ω3                       | 0,6 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,1 a  | 1,5 ± 0,1 a  | 1,7 ± 0,2 a  |
| C20:2ω6                       | 0,6 ± 0,1 a  | 0,6 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  | 0,2 ± 0,0 a  |
| C20:4ω6                       | 0,3 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,0 a  | 0,4 ± 0,1 a  | 0,5 ± 0,0 a  |
| Saturados                     | 39 a         | 39 a         | 33 a         | 31 a         |
| Monoinsaturados               | 45 a         | 45 a         | 40 a         | 41 a         |
| Poliinsaturados               | 16 a         | 16 a         | 27 a         | 28 a         |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,4          | 0,4          | 0,8          | 0,9          |
| Total ω3                      | 0,6          | 0,6          | 1,5          | 1,7          |
| Total ω6                      | 15,3         | 15,5         | 25,3         | 26,2         |
| ω6/ω3                         | 25,5         | 25,8         | 16,9         | 15,4         |

LTGR = lingüiça toscana grelhada; LTGR = lingüiça toscana grelhada; SHDCR = salsicha “hot-dog” crua; SHDCZ = salsicha “hot-dog” cozida; \*Média e estimativa do desvio padrão de três amostras em duplicata; nd = não detectado; Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% entre as amostras cruas e submetidas ao preparo térmico.

Tabela 4. Composição de ácidos graxos (% de área) em salsichas cruas e cozidas de carne de frango e de chester.

| Ácidos Graxos                 | SFGCR<br>M ± DP* | SFGCZ<br>M ± DP* | SCHCR<br>M ± DP* | SCHCZ<br>M ± DP* |
|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| C14:0                         | 0,6 ± 0,0 a      | 0,6 ± 0,0 a      | 0,6 ± 0,0 a      | 0,6 ± 0,0 a      |
| C15:0                         | 0,3 ± 0,1 a      | 0,3 ± 0,0 a      | 0,4 ± 0,0 a      | 0,4 ± 0,0 a      |
| C16:0                         | 22,8 ± 0,4 a     | 23,3 ± 0,4 a     | 23,5 ± 0,1 a     | 23,5 ± 0,5 a     |
| C17:0                         | 0,4 ± 0,1 a      | 0,3 ± 0,1 a      | 0,3 ± 0,1 a      | 0,3 ± 0,1 a      |
| C18:0                         | 6,0 ± 0,0 a      | 5,9 ± 0,2 a      | 6,3 ± 0,2 a      | 6,3 ± 0,3 a      |
| C24:0                         | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      |
| C16:1 $\omega$ 7              | 4,4 ± 0,2 a      | 4,7 ± 0,4 a      | 4,7 ± 0,2 a      | 4,7 ± 0,2 a      |
| C17:1 $\omega$ 7              | 0,3 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,0 a      | 0,4 ± 0,1 a      | 0,3 ± 0,1 a      |
| C18:1 $\omega$ 7t             | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      |
| C18:1 $\omega$ 9              | 35,2 ± 1,4 a     | 35,0 ± 1,7 a     | 35,9 ± 0,4 a     | 35,8 ± 0,2 a     |
| C20:1 $\omega$ 11             | 0,3 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,0 a      |
| C18:2 $\omega$ 6              | 26,6 ± 2,0 a     | 26,4 ± 1,9 a     | 24,6 ± 0,3 a     | 24,6 ± 0,5 a     |
| C18:3 $\omega$ 6              | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      |
| C18:3 $\omega$ 3              | 2,0 ± 0,4 a      | 1,9 ± 0,3 a      | 1,5 ± 0,0 a      | 1,5 ± 0,1 a      |
| C20:2 $\omega$ 6              | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      |
| C20:4 $\omega$ 6              | 0,6 ± 0,0 a      | 0,6 ± 0,0 a      | 0,9 ± 0,0 a      | 0,9 ± 0,1 a      |
| Saturados                     | 30 a             | 31 a             | 32 a             | 32 a             |
| Monoinsaturados               | 40 a             | 40 a             | 41 a             | 41 a             |
| Poliinsaturados               | 30 a             | 30 a             | 27 a             | 27 a             |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 1,0              | 1,0              | 0,8              | 0,8              |
| Total $\omega$ 3              | 2,0              | 1,9              | 1,5              | 1,5              |
| Total $\omega$ 6              | 27,5             | 27,3             | 25,8             | 25,9             |
| $\omega$ 6/ $\omega$ 3        | 13,7             | 14,4             | 17,2             | 17,3             |

SFGCR = salsicha de frango crua; SFGCZ = salsicha de frango cozida; SCHCR = salsicha de chester crua; SCHCZ = salsicha de chester cozida.

\*Média e desvio padrão de três amostras em duplicata.

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% entre as amostras cruas e cozidas.



Tabela 5. Composição de ácidos graxos (% de área) em lingüiças cruas e assadas de carne de frango e de chester.

| Ácidos Graxos                 | LFGCR<br>M ± DP* | LFGAS<br>M ± DP* | LCHCR<br>M ± DP* | LCHAS<br>M ± DP* |
|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| C14:0                         | 0,7 ± 0,1 a      | 0,7 ± 0,1 a      | 1,1 ± 0,1 a      | 1,2 ± 0,0 a      |
| C15:0                         | 0,4 ± 0,0 a      | 0,5 ± 0,0 a      | 0,4 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,0 a      |
| C16:0                         | 24,8 ± 2,6 a     | 24,9 ± 0,5 a     | 23,8 ± 0,8 a     | 24,2 ± 0,8 a     |
| C17:0                         | 0,3 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,1 a      | 0,5 ± 0,0 a      | 0,5 ± 0,0 a      |
| C18:0                         | 6,6 ± 0,2 a      | 6,7 ± 0,1 a      | 8,6 ± 0,4 a      | 8,5 ± 0,4 a      |
| C20:0                         | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      |
| C22:0                         | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      |
| C24:0                         | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      |
| C16:1ω7                       | 5,1 ± 0,3 a      | 5,3 ± 0,1 a      | 3,8 ± 0,2 a      | 3,8 ± 0,3 a      |
| C17:1ω7                       | 0,2 ± 0,1 a      | 0,3 ± 0,0 a      | 0,5 ± 0,0 a      | 0,5 ± 0,0 a      |
| C18:1ω9t                      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,0 a      | 0,3 ± 0,0 a      |
| C18:1ω9                       | 36,8 ± 0,6 a     | 36,5 ± 0,6 a     | 39,8 ± 0,4 a     | 39,5 ± 0,7 a     |
| C20:1ω11                      | 0,2 ± 0,1 a      | 0,3 ± 0,0 a      | 0,6 ± 0,1 a      | 0,5 ± 0,1 a      |
| C18:2ω6                       | 22,3 ± 1,0 a     | 21,9 ± 0,8 a     | 18,2 ± 0,7 a     | 18,2 ± 0,7 a     |
| C18:3ω6                       | 0,2 ± 0,0 a      | 0,2 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      |
| C18:3ω3                       | 1,2 ± 0,1 a      | 1,1 ± 0,1 a      | 0,9 ± 0,1 a      | 0,9 ± 0,1 a      |
| C20:2ω6                       | 0,1 ± 0,0 a      | 0,1 ± 0,0 a      | 0,5 ± 0,0 a      | 0,5 ± 0,0 a      |
| C20:4ω6                       | 0,7 ± 0,1 a      | 0,7 ± 0,1 a      | 0,6 ± 0,0 a      | 0,6 ± 0,0 a      |
| Saturados                     | 33 a             | 34 a             | 35 a             | 36 a             |
| Monoinsaturados               | 42 a             | 42 a             | 45 a             | 44 a             |
| Poliinsaturados               | 25 a             | 24 a             | 20 a             | 20 a             |
| Poliinsaturados/<br>Saturados | 0,8              | 0,7              | 0,6              | 0,6              |
| Total ω3                      | 1,2              | 1,1              | 0,9              | 0,9              |
| Total ω6                      | 23,3             | 22,9             | 19,3             | 19,3             |
| ω6/ω3                         | 19,4             | 20,8             | 21,4             | 21,4             |

LFGCR = lingüiça de frango crua; LFGAS = lingüiça de frango assada; LCHCR = lingüiça de chester crua; LCHAS = lingüiça de chester assada. \*Média e desvio padrão de três amostras em duplicata. Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% entre as amostras cruas e assadas.

Tabela 6. Composição de ácidos graxos (% de área) em hambúrguer de chester cru e grelhado.

| Ácidos Graxos             | Cru              | Grelhado         |
|---------------------------|------------------|------------------|
|                           | M $\pm$ DP*      | M $\pm$ DP*      |
| C14:0                     | 0,7 $\pm$ 0,0 a  | 0,7 $\pm$ 0,0 a  |
| C15:0                     | 0,4 $\pm$ 0,0 a  | 0,4 $\pm$ 0,0 a  |
| C16:0                     | 24,8 $\pm$ 0,1 a | 24,8 $\pm$ 0,5 a |
| C17:0                     | 0,2 $\pm$ 0,0 a  | 0,2 $\pm$ 0,0 a  |
| C18:0                     | 6,1 $\pm$ 0,1 a  | 6,0 $\pm$ 0,1 a  |
| C20:0                     | 0,1 $\pm$ 0,0 a  | 0,1 $\pm$ 0,0 a  |
| C22:0                     | 0,2 $\pm$ 0,0 a  | 0,2 $\pm$ 0,0 a  |
| C24:0                     | 0,1 $\pm$ 0,0 a  | 0,1 $\pm$ 0,0 a  |
| C16:1 $\omega$ 7          | 5,7 $\pm$ 0,2 a  | 5,7 $\pm$ 0,2 a  |
| C17:1 $\omega$ 7          | 0,3 $\pm$ 0,0 a  | 0,3 $\pm$ 0,0 a  |
| C18:1 $\omega$ 9t         | 0,2 $\pm$ 0,1 a  | 0,2 $\pm$ 0,0 a  |
| C18:1 $\omega$ 9          | 38,2 $\pm$ 0,1 a | 38,2 $\pm$ 0,2 a |
| C20:1 $\omega$ 11         | 0,3 $\pm$ 0,0 a  | 0,3 $\pm$ 0,0 a  |
| C18:2 $\omega$ 6          | 21,0 $\pm$ 0,1 a | 20,9 $\pm$ 0,2 a |
| C18:3 $\omega$ 6          | 0,2 $\pm$ 0,0 a  | 0,2 $\pm$ 0,0 a  |
| C18:3 $\omega$ 3          | 1,1 $\pm$ 0,0 a  | 1,1 $\pm$ 0,0 a  |
| C20:2 $\omega$ 6          | 0,1 $\pm$ 0,0 a  | 0,1 $\pm$ 0,0 a  |
| C20:4 $\omega$ 6          | 0,5 $\pm$ 0,0 a  | 0,5 $\pm$ 0,1 a  |
| Saturados                 | 33 a             | 33 a             |
| Monoinsaturados           | 44 a             | 44 a             |
| Poliinsaturados           | 23 a             | 23 a             |
| Poliinsaturados/Saturados | 0,7              | 0,7              |
| Total $\omega$ 3          | 1,1              | 1,1              |
| Total $\omega$ 6          | 21,8             | 21,7             |
| $\omega$ 6/ $\omega$ 3    | 19,8             | 19,7             |

\* Média e desvio padrão de três amostras em duplicata.

Valores na mesma linha com letras iguais não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

LARKESON *et al.* (2000) determinaram em almôndegas (50% carne bovina + 50% carne suína) e hambúrguer bovino crus e fritos os principais ácidos graxos, em ordem decrescente: C18:1 $\omega$ 9, C16:0, C18:0, C18:2 $\omega$ 6 e C16:1 $\omega$ 7. Não relataram a presença de ácidos graxos *trans*, enquanto que no presente trabalho, o ácido graxo isômero *trans* C18:1 $\omega$ 9 foi detectado entre os principais ácidos graxos encontrados nas amostras cruas e assadas de almôndegas e hambúrguer.

RODRIGUEZ-ESTRADA *et al.* (1997) também não encontraram diferença significativa para as porcentagens de áreas de ácidos graxos saturados e monoinsaturados entre as amostras de hambúrguer bovino cruas e cozidas, enquanto que os ácidos graxos poliinsaturados apresentaram diferenças significativas. Obtiveram porcentagens de áreas de ácidos graxos saturados semelhantes (48,7%), monoinsaturados maiores (47,8%) e poliinsaturados menores (3,5%) que as obtidas no presente trabalho.

PEREIRA *et al.* (2000) encontraram porcentagens de áreas de ácidos graxos saturados menores em lingüiças tipo comum (34,1%), maiores em lingüiças de frango (35,6%) e semelhantes em lingüiças de chester (34,6%), porcentagens de áreas de ácidos graxos monoinsaturados maiores para os três tipos de lingüiças, tipo comum (50,2%), lingüiças de frango (50,2%) e lingüiças de chester (50,1%) e porcentagens de áreas de ácidos graxos poliinsaturados semelhantes para as amostras de lingüiças tipo comum (15,7%) e menores para as lingüiças de frango (14,2%) e de chester (15,4%), comparadas com as porcentagens de áreas encontradas entre as amostras de lingüiça toscana, lingüiça de frango e lingüiça de chester cruas, analisadas no presente trabalho.

Em relação aos aspectos nutricionais, observou-se que os produtos cárneos processados, analisados no presente trabalho, apresentaram teores de lipídios totais acima de 5%, não sendo, portanto, alimentos de baixo teor de gordura (FOOD ADVISORY COMMITTEE da Inglaterra). O teor de colesterol, na base úmida, nos produtos cozidos variou de 28 a 61mg/100g, estando abaixo do valor máximo recomendado de 300mg de colesterol/dia (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2003) e não foi encontrado nenhum óxido de colesterol. A razão de ácidos graxos poliinsaturados/saturados variou de 0,25 a 1,0. As amostras de

almôndegas e hambúrguer bovinos e de lingüiça toscana ficaram abaixo do mínimo recomendado de 0,45, segundo o BRITISH DEPARTMENT OF HEALTH (1994) para a dieta total, enquanto que as demais amostras analisadas ficaram acima deste mínimo recomendado. A razão  $\omega 6/\omega 3$  variou de 13,7 a 25,8, ficando acima do máximo recomendado de 4 para a dieta total (BRITISH DEPARTMENT OF HEALTH, 1994). Estas deficiências devem ser compensadas com outros componentes da dieta.

## **4 – CONCLUSÃO**

Somente os teores de colesterol entre as amostras cruas e grelhadas de lingüiça suína e hambúrguer de chester foram significativamente menores nas amostras grelhadas, assim como os teores de lipídios totais entre o hambúrguer bovino cru e grelhado.

A composição de ácidos graxos, em relação aos teores de lipídios totais na base seca, apresentou diferença significativa somente entre as amostras de hambúrguer bovino cru e grelhado.

O preparo térmico não levou à formação de óxidos de colesterol nas amostras de produtos cárneos processados analisadas.

## **5 – AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte e apoio financeiro.

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Dietary Guidelines for Healthy American Adults**, (<http://www.americanheart.org/Heart-and-Stroke-A-Z-guide/dietg.html>), 2003.

ARO, A.; ANTOINE, J. M.; PIZZOFERRATO, L.; REYKDAL, O. & van POPEL, G. *Trans* fatty acids in dairy and meat products from 14 European Countries: the Transfair study. **J. Food Comp. Anal.**, **11**: 150-160, 1998.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC**. 15.ed. Washington: AOAC, 1990. 931p.

BAGGIO, S. R. & BRAGAGNOLO, N. Validação da metodologia para determinação simultânea, por CLAE, de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, **24 (1)**: 64-70, 2004.

CANDELA, M.; ASTIASARÁN, I. & BELLO, J. Effect of frying on the fatty acid profile of some meat dishes. **J. Food Comp. Anal.**, **9**: 277-282, 1996.

DEPARTMENT OF HEALTH. 1994. **Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease**. Report on Health and Social Subjects n° 46. London.

FOLCH, J. LESS, M. & STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, **226**: 497-509, 1957.

FOOD ADVISORY COMMITTEE. 1990. **Report on review of food labelling and advertising**. London.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P. B.; RAFECAS, M. & BOATELLA, Biological Effects of Oxysterols: Current Status. **Food Chem. Toxicol.** **34**: 193-198, 1996.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Pract.**, **22**: 475-481, 1973.

HIGLEY, N. A.; TAYLOR, S. L.; HERIAN, A. M. & LEE, K. Cholesterol oxides in processed meats. **Meat Sci.**, **16**: 175-188, 1986.

IMAI, H.; WERTHESEN, N. T.; TAYLOR, B. & LEE, K. T. Angiotoxicity and arteriosclerosis due to contaminants of USP-grade cholesterol. **Arch. Pathol. Med.**, **100**: 565-572, 1976.

KESAVA-RAO, V.; KOWALE, B. N.; BABU, N. P. & BISHT, G. S. Effect of cooking and storage on lipid oxidation and development of cholesterol oxidation products in water buffalo meat. **Meat Sci.**, **43**: 179-185, 1996.

KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends Food Sci. Technol.**, **1**: 67-74, 1990.

LARKESON, B.; DUTTA, P. C. & HANSSON, I. Effects of frying and storage on cholesterol oxidation in minced meat products. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **77**: 675-680, 2000.

LI, N.; OSHIMA, T.; SHOZEN, K.; USHIO, H. & KOIZUMI, C. Effects of the degree of unsaturation of coexistent triglycerols on cholesterol oxidation. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **71**: 623-627, 1994.

MAI, J.; SHIMP, J.; WEIHRAUCH, J. & KINSELLA, J. E. Lipids of fish fillets: changes following cooking by different methods. **J. Food Sci.**, **43**: 1669-1674, 1978.

MORGAN, J. N. & ARMSTRONG, D. J. Quantification of cholesterol oxidation products in egg yolk powder spray-dried with direct heating. **J. Food Sci.**, **57**: 43-45, 1992.

MURPHY, E. W.; CRINER, P. E. & GRAY, B. C. Comparison of methods for calculating retentions of nutrients in cooked foods. **J. Agric. Food Chem.**, **23**: 1153-1157, 1975.

OSADA, K.; KODAMA, T.; YAMADA, K. & SUGANO, M. Oxidation of cholesterol by heating. **J. Agric. Food Chem.**, **41**: 1198-1202, 1993a.

PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D. & GERMAN, B. G. Cholesterol Oxides in Foods of Animal Origin. **J. Food Sci.**, **60**: 1159-1174, 1995.

PEREIRA, N. R.; TARLEY, C. R. T.; MATSUSHITA, M. & SOUZA, N. E. Proximate composition and fatty acid profile in brazilian poultry sausages. **J. Food Comp. Anal.**, **13**: 915-920, 2000.

PIE, J. E.; SPAHIS, K. & SEILLAN, C. Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. **J. Agric. Food Chem.**, **39**: 250-254, 1991.

RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; PENAZZI, G.; CABONI, M. F.; BERTACCO, G. & LERCKER, G. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburguers. **Meat Sci.**, **45**: 365-375, 1997.

SANDER, B. D.; ADDIS, P. B.; PARK, S. W. & SMITH, D. E. Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. **J. Food Prot.**, **52**: 109-114, 1989.

SARANTINOS, J.; O'DEA, K. & SINCLAIR, A. J. Cholesterol oxides in Australian foods. **Food Australia**, **45**: 485-490, 1993.

SCHAEFER, E. J. Lipoproteins, nutrition and heart disease. **Am. J. Clin. Nutr.**, **75**:191-212, 2002.

SEVANIAN, A. & PETERSON, A. R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. **Food Chem. Toxicol.**, **24**: 1103-1109, 1986.

SMITH, L. M.; DUNKLEY, W. L.; FRANKE, A. & DAIKING, T. Measurement of *trans* and other isomeric insaturated fatty acid in butter and margarine. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **55**: 257-261, 1978.

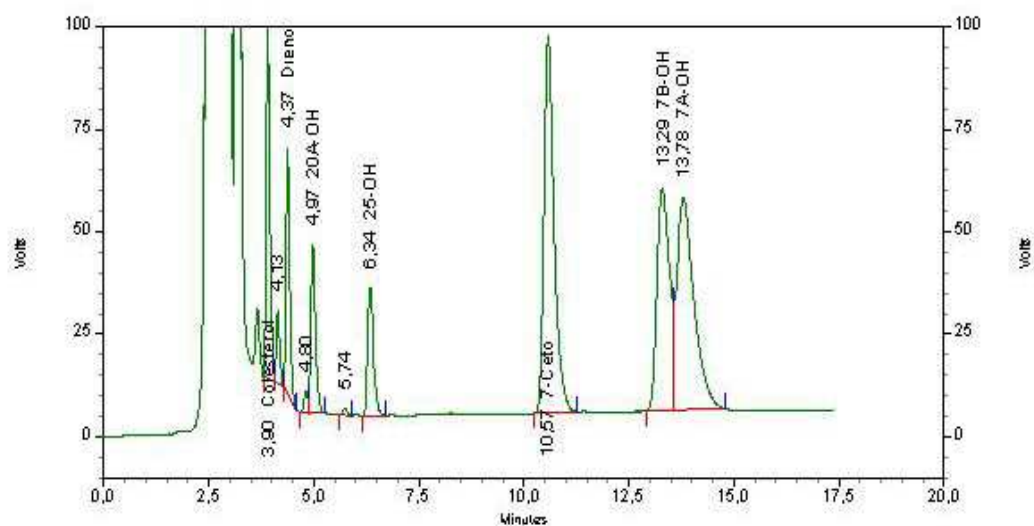
TAYLOR, B.; PENG, S. K.; WERTHESSEN, N. T.; THAM, P. & LEE, K. T. Spontaneously occurring angiotoxic derivates of cholesterol. **Am. J. Clin. Nutr.**, **32**: 40-57, 1979.



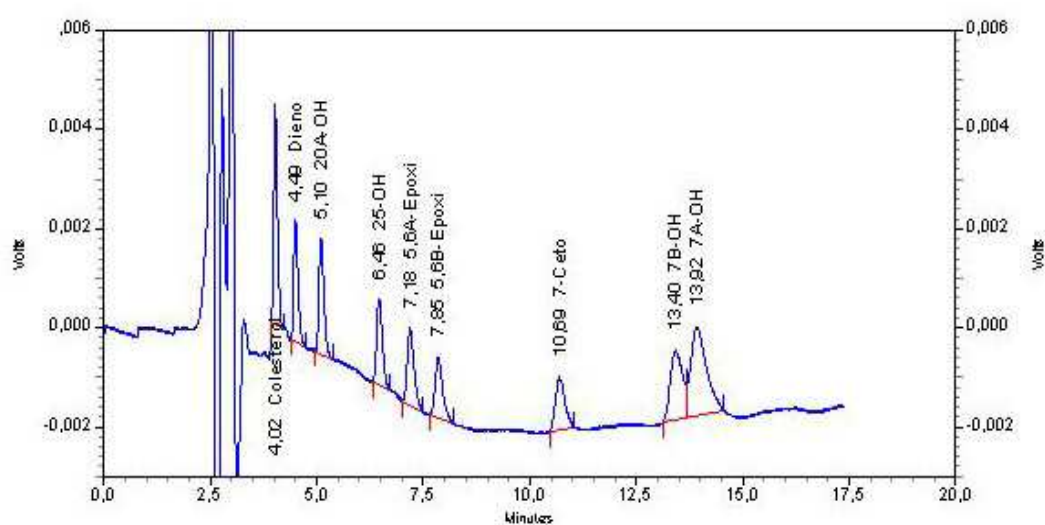
## **ANEXOS**

## Anexo 1

## Cromatogramas do colesterol e dos óxidos de colesterol

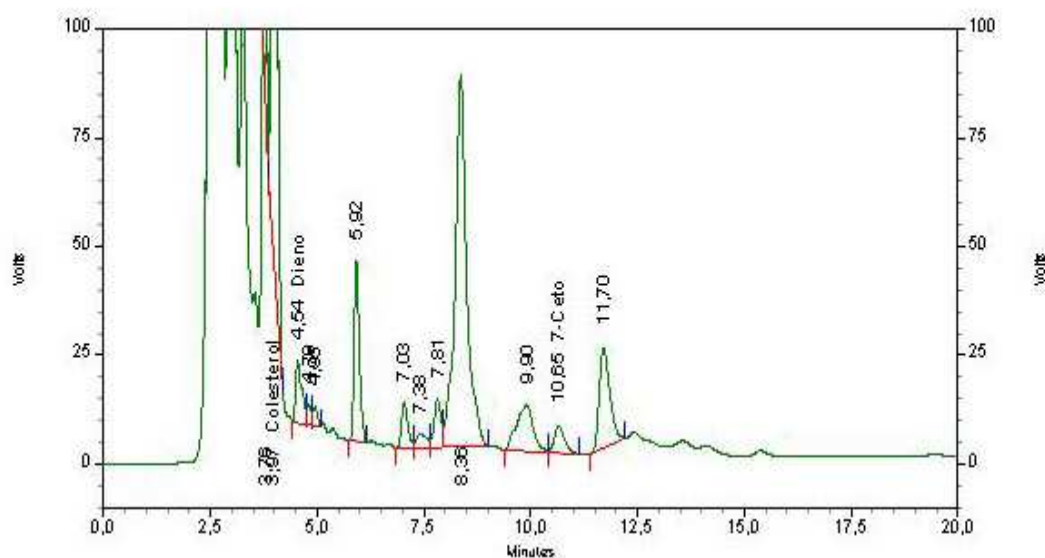


(a)

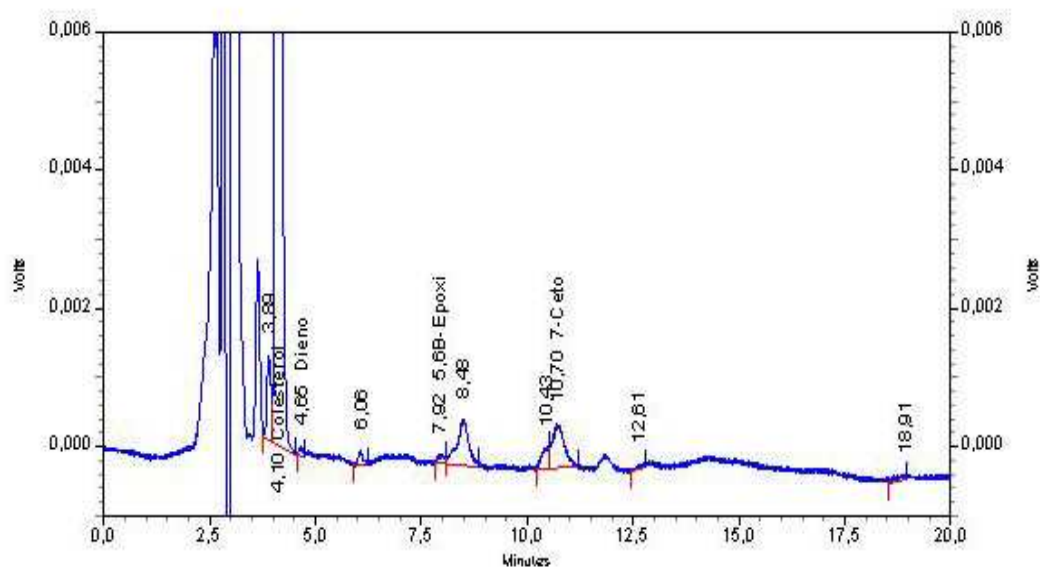


(b)

Fig. 1 – Cromatogramas característicos dos padrões de colesterol e de óxidos de colesterol, obtidos pelo detector por conjunto de diodos fixado a 210nm (a) e pelo detector por índice de refração (b). Condições cromatográficas: coluna CN (300 x 3,9mm; 4 $\mu$ m), fase móvel hexano/isopropanol (96+4), vazão 1,0mL/min.

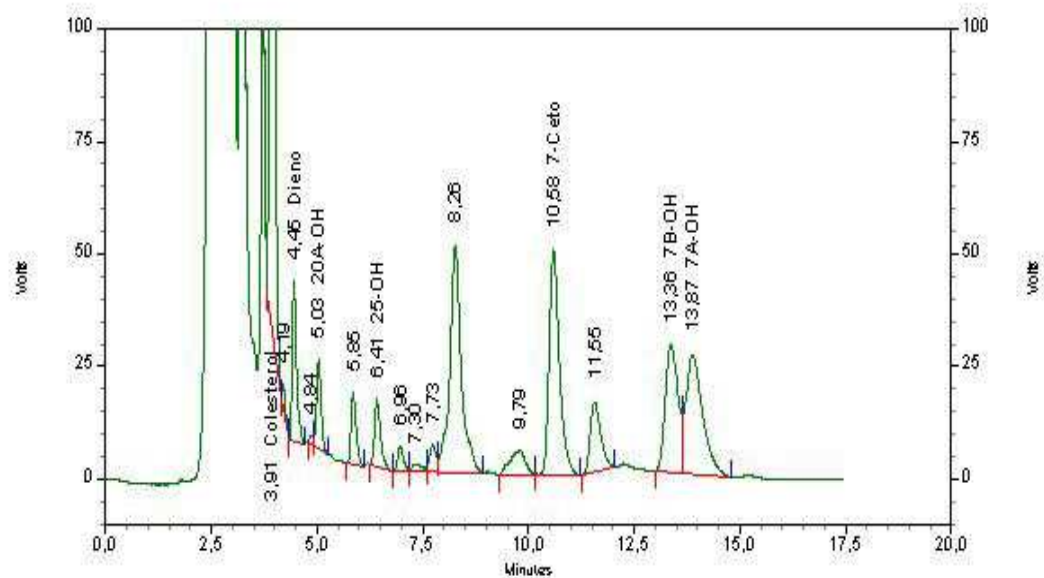


(a)

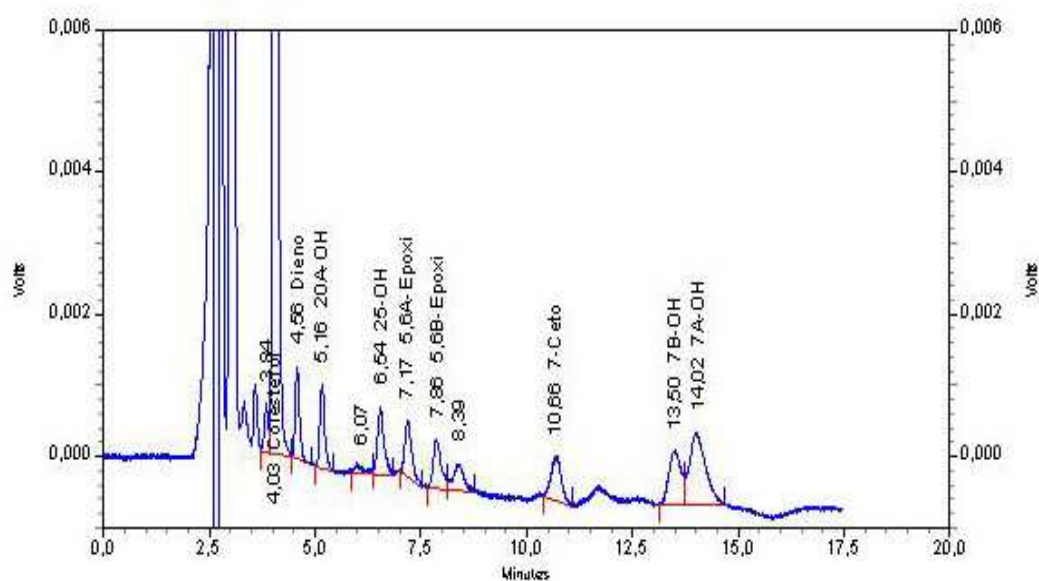


(b)

Fig. 2 – Cromatogramas característicos de colesterol e de óxidos de colesterol em amostra de blanquete de peru, obtidos pelo detector por conjunto de diodos fixado a 210nm (a) e pelo detector por índice de refração (b). Condições cromatográficas: coluna CN (300 x 3,9mm; 4 $\mu$ m), fase móvel hexano/isopropanol (96+4), vazão 1,0mL/min.

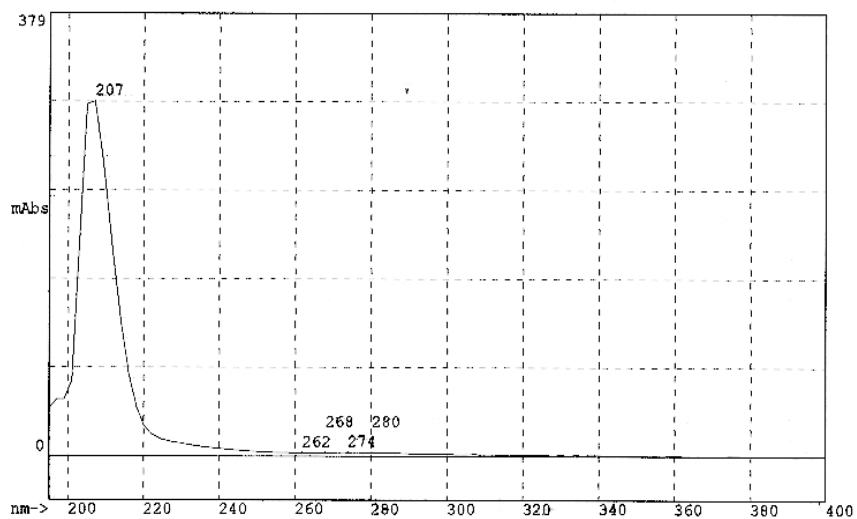


(a)

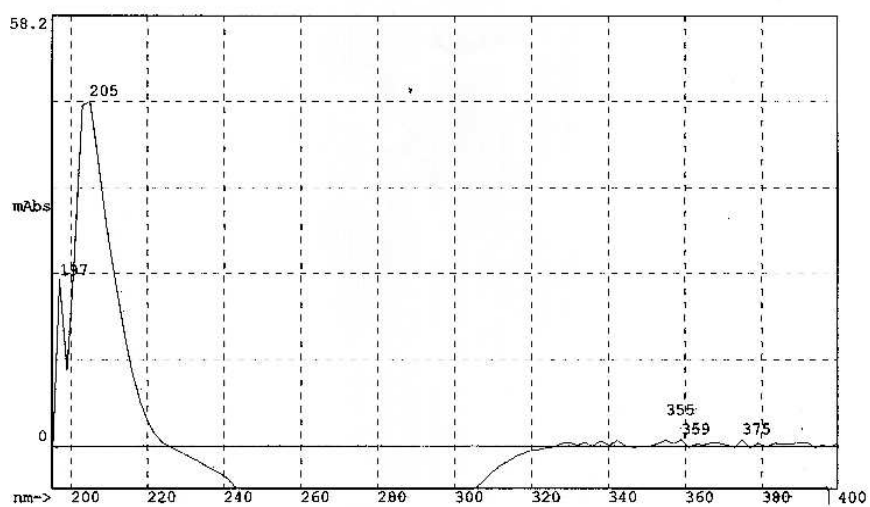


(b)

Fig. 3 – Cromatogramas característicos da co-cromatografia de colesterol e de óxidos de colesterol em amostra de blanquete de peru, obtidos pelo detector por conjunto de diodos fixado a 210nm (a) e pelo detector por índice de refração (b). Condições cromatográficas: coluna CN (300 x 3,9mm; 4 $\mu$ m), fase móvel hexano/isopropanol (96+4), vazão 1,0mL/min.

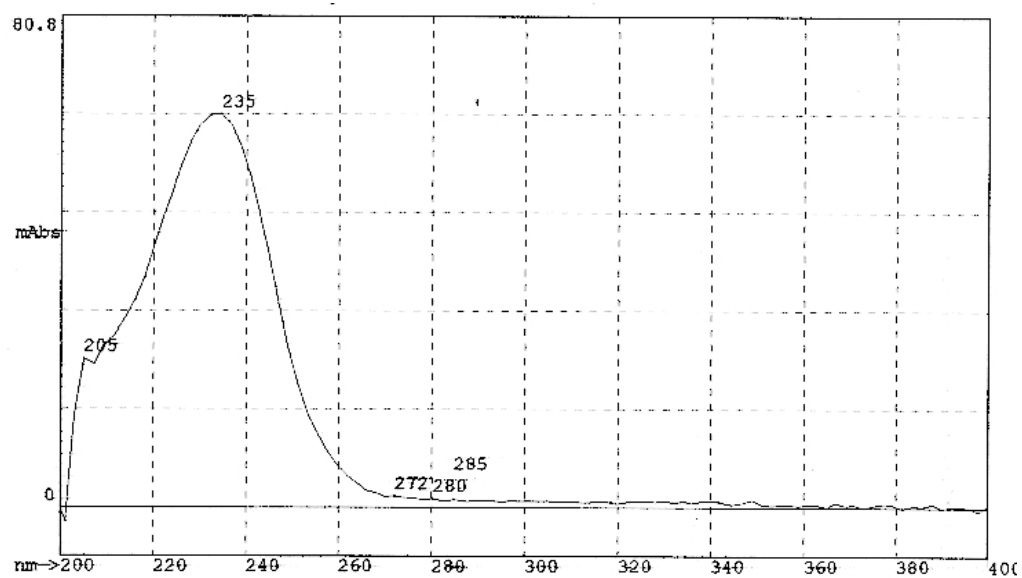
**Espectros de absorvância do colesterol e dos óxidos de colesterol**

(a)

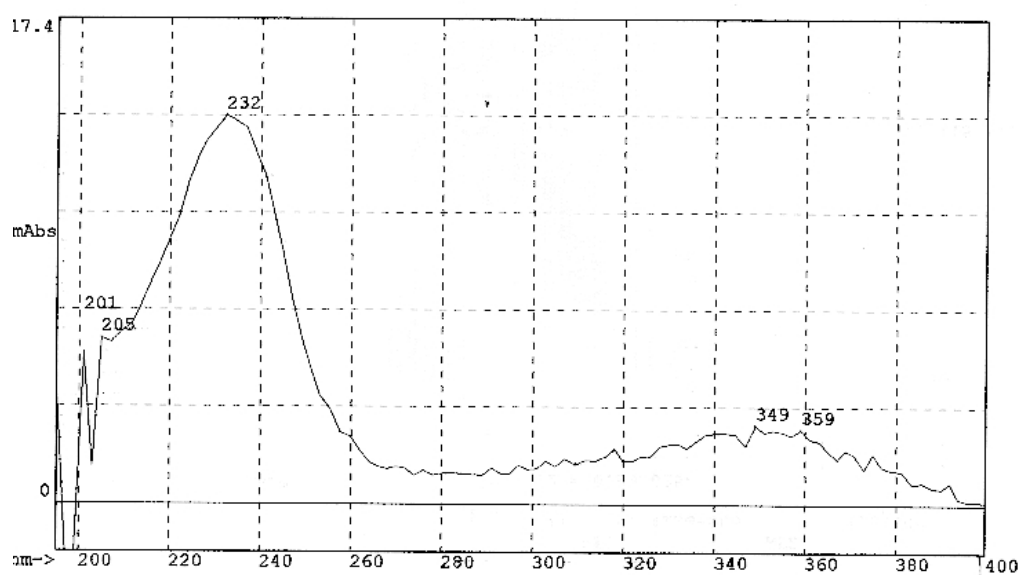


(b)

Fig. 4 – Espectros de absorvância do colesterol, padrão (a) e amostra (b), obtidos pelo detector por conjunto de diodos. Condições cromatográficas: coluna CN (300 x 3,9mm; 4 $\mu$ m), fase móvel hexano/isopropanol (96+4), vazão 1,0mL/min.



(a)

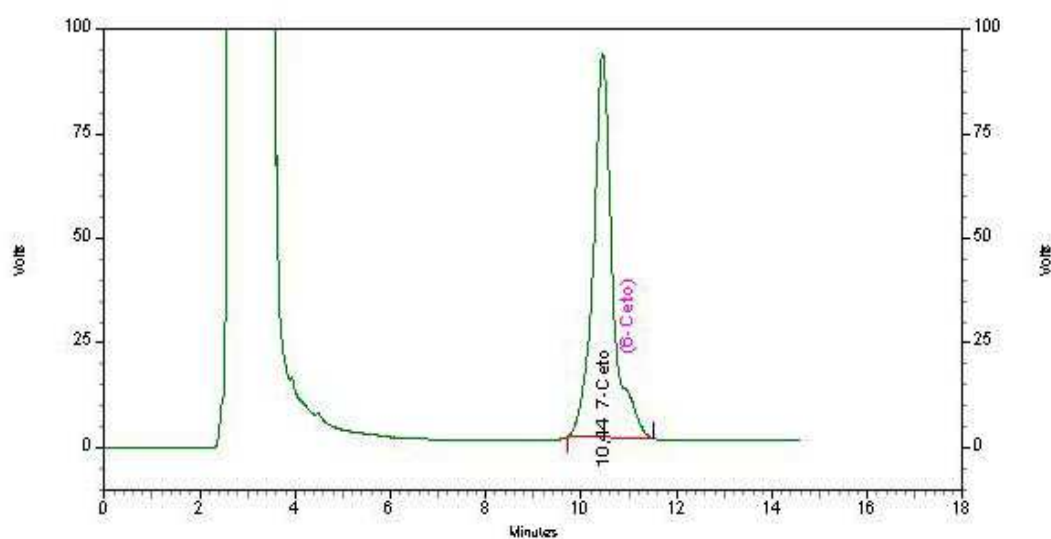


(b)

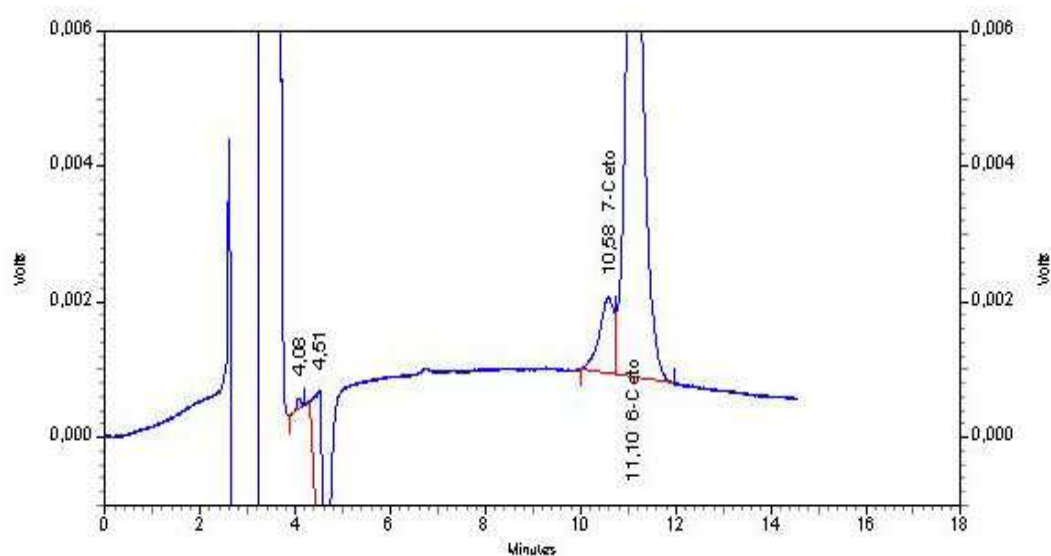
Fig. 5 – Espectros de absorvância do 7-cetocolesterol, padrão (a) e amostra (b), obtidos pelo detector por conjunto de diodos. Condições cromatográficas: coluna CN (300 x 3,9mm; 4 $\mu$ m), fase móvel hexano/isopropanol (96+4), vazão 1,0mL/min.

## Anexo 2

## Cromatogramas dos padrões de 6-cetocolesterol e 7-cetocolesterol



(a)

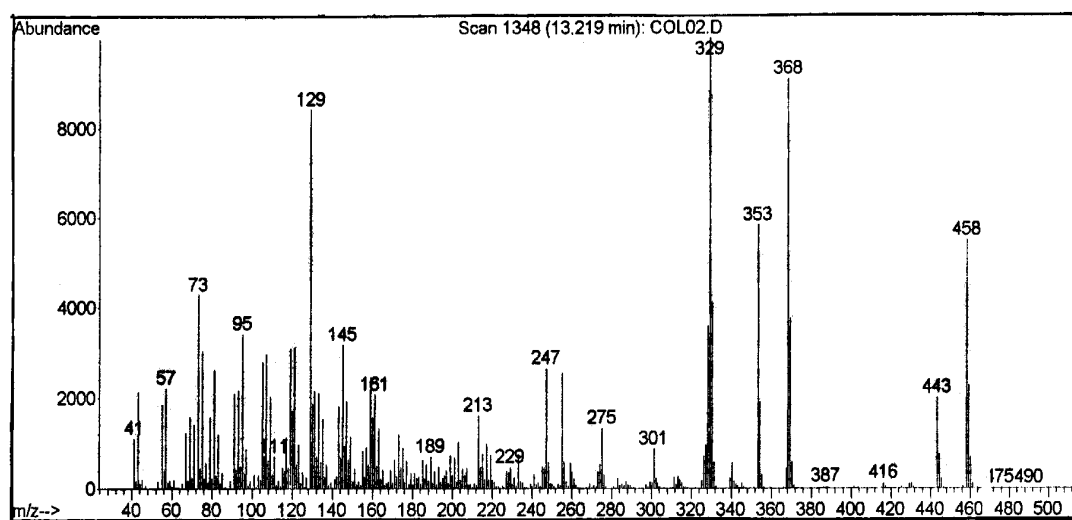


(b)

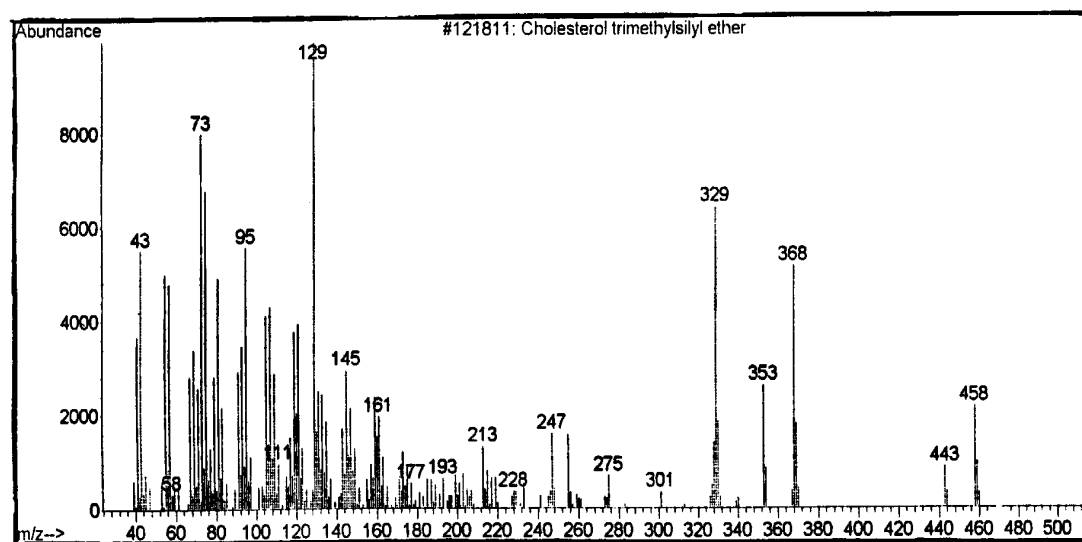
Fig. 1 – Cromatogramas característicos dos padrões de 6-cetocolesterol e 7-cetocolesterol, obtidos pelo detector por conjunto de diodos fixado a 210nm (a) e pelo detector por índice de refração (b). Condições cromatográficas: coluna CN (300 x 3,9mm; 4 $\mu$ m), fase móvel hexano/isopropanol (96+4), vazão 1,0mL/min.

## Anexo 3

## Espectros de massas do colesterol e dos óxidos de colesterol



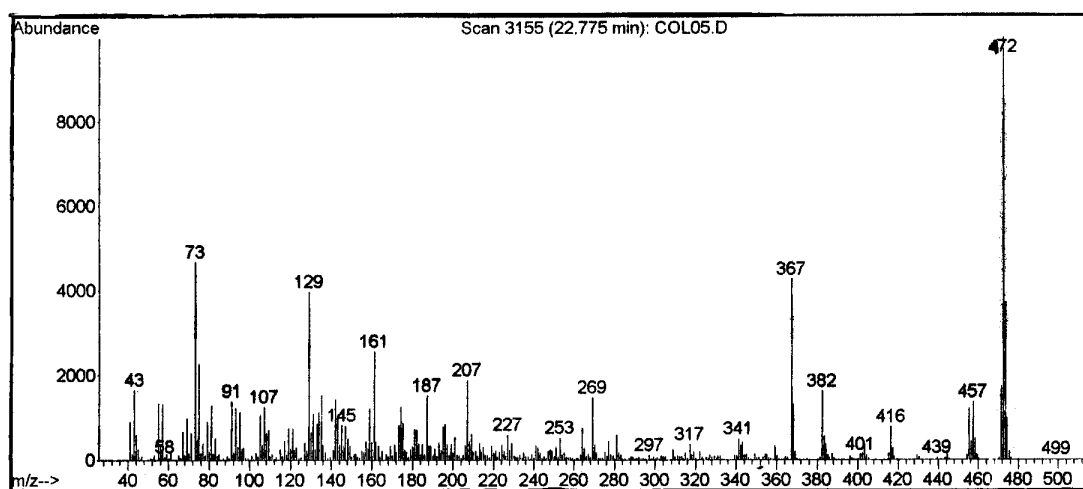
(a)



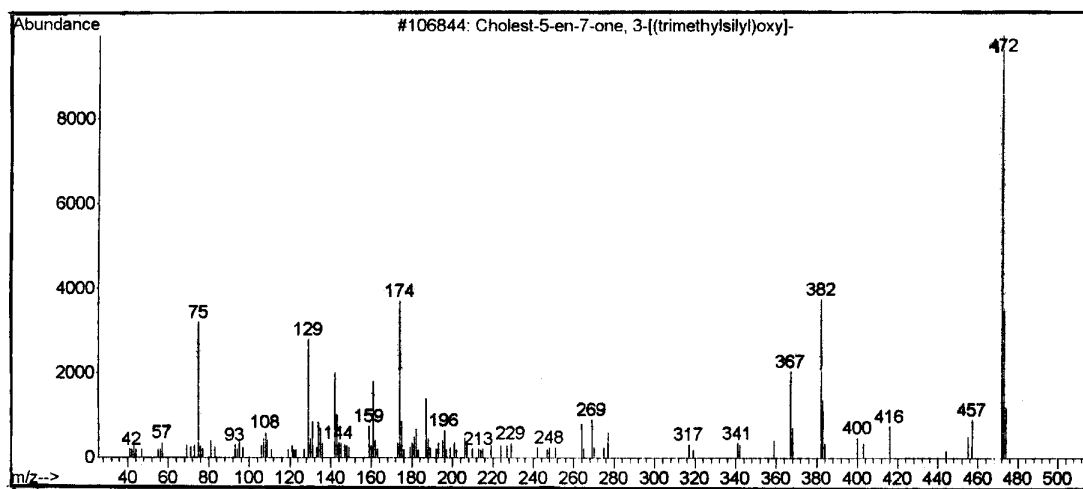
(b)

Fig. 1 – Espectros de massas do colesterol, padrão (a) e amostra (b), obtidos por cromatografia gasosa. Energia de ionização de 70eV. Os espectros de massas foram explorados de 40-600 (m/z).



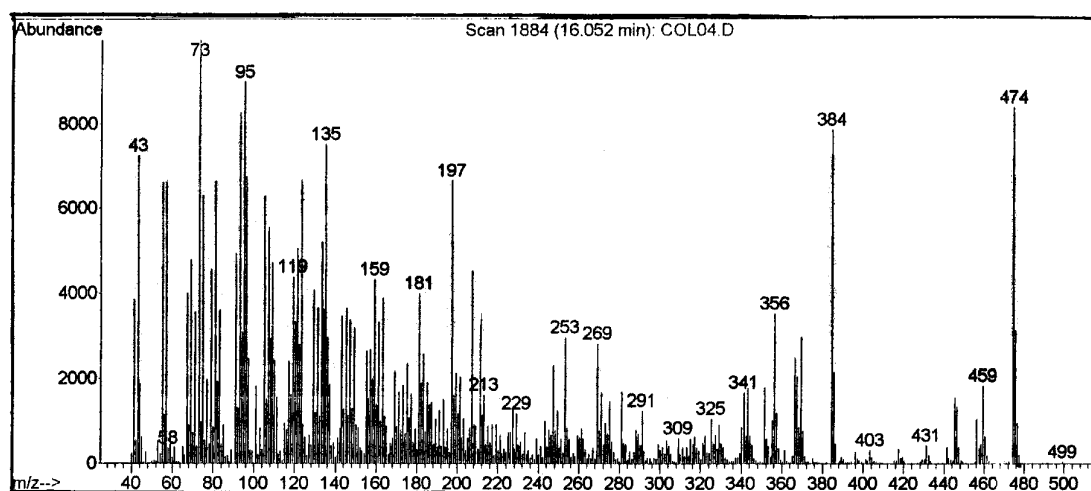


(a)

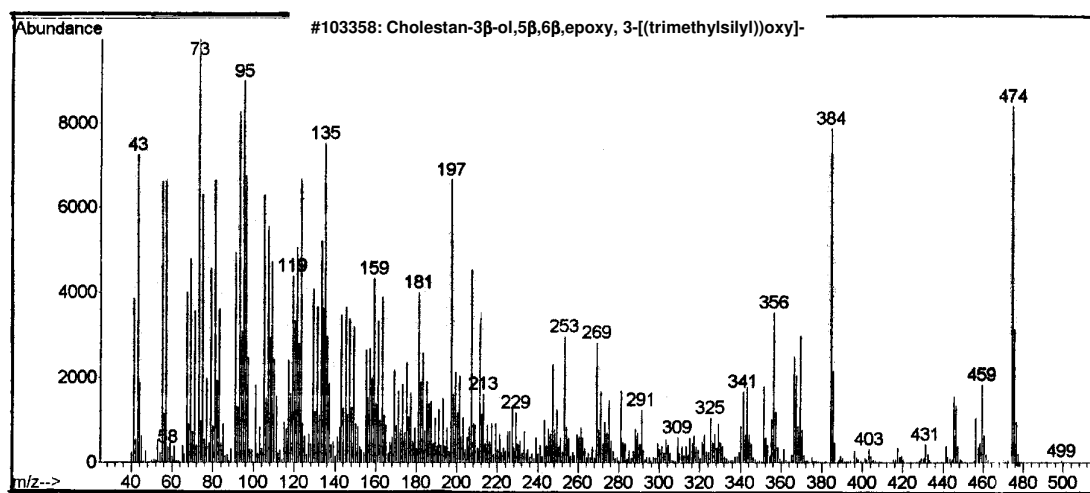


(b)

Fig. 2 – Espectros de massas do 7-cetocolesterol, padrão (a) e amostra (b), obtidos por cromatografia gasosa. Energia de ionização de 70eV. Os espectros de massas foram explorados de 40-600 (m/z).



(a)



(b)

Fig. 3 – Espectros de massas do 5,6 $\beta$ -epoxicolesterol, padrão (a) e amostra (b), obtidos por cromatografia gasosa. Energia de ionização de 70eV. Os espectros de massas foram explorados de 40-600 (m/z).