

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

MAYARA QUEIROGA BARBOSA

EFEITO DO CONSUMO DE DIETAS ELABORADAS COM MORTADELAS DEFUMADAS E NÃO DEFUMADAS SOBRE O PERFIL LIPÍDICO E ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DO FÍGADO E DO CÓLON INTESTINAL DE RATOS.

João Pessoa

2011

MAYARA QUEIROGA BARBOSA

EFEITO DO CONSUMO DE DIETAS ELABORADAS COM MORTADELAS DEFUMADAS E NÃO DEFUMADAS SOB O PERFIL LIPÍDICO E ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DO FÍGADO E DO CÓLON INTESTINAL DE RATOS MACHOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição

ORIENTADORES: Prof. Dr. João Andrade da Silva

Prof^a. Dr^a Maria José de Carvalho Costa

João Pessoa

2011

MAYARA QUEIROGA BARBOSA

EFEITO DO CONSUMO DE DIETAS ELABORADAS COM MORTADELAS DEFUMADAS E NÃO DEFUMADAS SOB O PERFIL LIPÍDICO E ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DO FÍGADO E DO CÓLON INTESTINAL DE RATOS MACHOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição

ORIENTADORES: Prof. Dr. João Andrade da Silva

Prof^a. Dr^a Maria José de Carvalho Costa

João Pessoa

2011

MAYARA QUEIROGA BARBOSA

EFEITO DO CONSUMO DE DIETAS ELABORADAS COM MORTADELA TIPO BOLOGNA SOB O PERFIL LIPÍDICO E ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DO FÍGADO E DO CÓLON INTESTINAL DE RATOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição

Aprovada em _____ de _____ 2011

BANCA EXAMINADORA

Profº Dr. João Andrade da Silva – Orientador

Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição/UFPB

Profª. Drª Maria José de Carvalho Costa – Orientadora

Professora do Departamento de Nutrição e do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição/UFPB

Profº. Dr. Hugo Enrique Méndez Garcia

Professor do Departamento de Morfologia e Coordenador do Laboratório de Processamento de Material Biológico da Escola Técnica de Saúde/UFPB – Membro Externo Titular.

Profª Drª Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves

Professora do Departamento de Nutrição e Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição / UFPB – Membro Interno Titular

Á Deus, por me instruir, por me proteger e fortalecer em todos os instantes da minha vida;

Aos meus pais (Antonio e Maria), co-autores da minha trajetória, pela dedicação e esforço na minha formação pessoal e profissional, por todo amor, carinho, educação e confiança;

Á Gustavo, por todo amor, incentivo, dedicação e imensurável cumplicidade.

Dedico.

AGRADECIMENTO

À Deus, por seu infinito amor misericordioso, por ser presença viva todos os dias da minha vida, me fortalecendo diante dos obstáculos, me oferecendo a paz e a tranquilidade para execução de todas as minhas atividades diárias colocando no meu caminho anjos para me proteger e me ajudar;

Ao Professor João Andrade da Silva, meu orientador, por todo seu cuidado para comigo, pela paciência e boa vontade de me atender quando necessário e por todos os ensinamentos concedidos a mim;

Aos meus pais (Antonio e Maria) e minha irmã (Mariana) por serem exemplos de vida, superação e dedicação, pela educação que me ofereceram, por acreditarem no meu potencial, por compreender minha ausência, por serem tão presentes;

À Professora Maria José de Carvalho Costa, minha co-orientadora, pela sua boa vontade em dividir seus conhecimentos e por toda sua disponibilidade de me atender quando necessitei, pelas palavras acalentadoras e de incentivo;

À Professora Dr^a Francisca Bion e França (UFPE) pela parceria, acolhimento e doação dos animais utilizados na pesquisa;

Aos Professores Dr. Hugo Enrique Méndez Garcia e *Claudenice* Rodrigues do Nascimento, pelo acolhimento, pela disponibilização do Laboratório de Processamento e pela orientação para montagem dos cortes histológicos;

À Professora Ms Patologista Maria Vilma Matos Jurema, por sua disponibilidade em fazer as avaliações histopatológicas dos tecidos, por sua contribuição ao nos orientar;

Ao Professor Dr. Schuler pelo acolhimento, disponibilidade e auxílio para realização de análises no Laboratório de Cromatografia (UFPE);

Ao professor e amigo Edvaldo Vasconcelos, por sua amizade, por todos os conhecimentos compartilhados comigo, pela sua contribuição, fundamental para conclusão deste trabalho.

A professora Dr^a Luiza Sônia Rios Asciutti, pela sua honrosa contribuição nas correções e sugestões, fundamental para conclusão deste trabalho.

Às estudantes Larissa e Camila, pela amizade e carinho, pela disposição em me auxiliar na execução de todos os procedimentos experimentais no Laboratório de Nutrição Experimental. Não teria conseguido sem o empenho e boa vontade;

À Coordenação do Programa de Pós-graduação pela oportunidade concedida a todos de nossa turma. Especialmente à professora Maria Conceição Rodrigues Gonçalves pelas sugestões e correções deste trabalho.

Aos Funcionários do Programa, Seu Carlos e Seu Marcos, sempre solícitos, pela paciência e atenção dispensadas a todos os mestrandos.

À Direção e aos colegas de trabalho do Hospital Regional de Sousa (Márcia, Priscila, Monalisa, Luênia e Glênio), pelo companheirismo, apoio e incentivo, por compreender a importância da flexibilidade de minha carga horária durante todo período de execução da pesquisa;

À Coordenadora do Curso de Nutrição da Faculdade Unida da Paraíba - UNPB Prof^a Bárbara Melo, por me conceder a oportunidade de fazer parte da equipe de docentes da do curso de Nutrição, por sua confiança no meu trabalho, por sua amizade e pelas palavras de estímulo;

À Prof^a Maria Lúcia da Conceição por ter sido a primeira pessoa a me incentivar na área de pesquisa, por me acolher em seu Laboratório e compartilhar seus conhecimentos na área de Bioquímica de Alimentos. Muito obrigada!

Aos amigos e professores Elieiyde Gomes e Carlos Eduardo Vasconcelos, por sua amizade, companheirismo, pelas palavras de ânimo, pela ajuda quando precisei na execução das análises de composição centesimal e interpretação dos resultados, por deixar as coisas tão mais simples;

Aos meus tios (Gerônimo, Fátima, Isabel e Ruy), por me acolherem como filha, por acreditarem nas minhas idéias e por serem exemplo de superação, de vida, e de sucesso profissional. Obrigada por serem tão presentes na minha construção pessoal e profissional.

Aos meus primos, Geofábio, George, José Neto, Amanda, Jean e Demetrios (*in memoria*) por serem cúmplices e estimuladores de meus projetos pessoal, profissional e espiritual;

À Gustavo e sua família, pelo companheirismo, pela lealdade, pelas palavras de alento e de força, por me acompanhar em todos os momentos, por acreditar na minha capacidade de me adequar às diversas situações ocorridas durante toda a pesquisa,

Aos amigos, Quênia e André, por fazerem parte de minha vida de forma tão construtiva, fiel e alegre. Especialmente, a Quênia, minha amiga e colega de turma, por ser exemplo de dedicação como esposa, aluna e profissional, amiga de todas as horas e momentos, por ter o dom de transformar as situações difíceis em momentos divertidos;

À amiga e colega de turma, Taiz, por ser exemplo de força, de superação contra os obstáculos físicos e emocionais, por sua amizade, lealdade, cumplicidade, por poder dividir minhas alegrias e dificuldades; por fazer parte da minha vida;

A Rafaela Cristhine, amiga e colega de turma por me acompanhar sempre que possível nas atividades do experimento, por me auxiliar no sacrifício dos animais, por suas palavras de estímulo e amizade;

Aos meus queridos e tão presentes colegas de turma pela, Alana, Cléria, Élide, Eliseuda, Estevam, Fernanda, Laura, Mussara e Talita, pela amizade construída, pelos todos os momentos compartilhados;

À minha família EJC, meus coordenadores e irmãos de círculo pelo acolhimento, orações e incentivo. Em especial, Inaé Porto por sua dedicação em fazer a tradução do artigo. Muito Obrigada!

À Gabriela por sua amizade, por nos auxiliar no dia do sacrifício, por ser tão prestativa quando solicitada;

À Ana Hermínia, por sua amizade, por sua atenção e responsabilidade em executar os testes estatísticos, por nos orientar de forma tão clara e objetiva;

Às amigas Mayana, Roberta, Angélica, Maria Raquel e Edcleide, que, mesmo distantes se fizeram presentes, com palavras de conforto ou de alertas, por se preocuparem com a minha saúde e por ficarem felizes com as minhas conquistas;

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

“Tudo posso naquele que me fortalece”.

Filipenses 4:13

RESUMO

O maior consumo de produtos cárneos processados em relação à carne vermelha pode elevar o risco da incidência do câncer de cólon e/ ou reto e próstata. Apesar de várias evidências desta relação são necessárias mais pesquisas para indicar quais alimentos estão envolvidos com esse risco e contribuir para esclarecimento dos mecanismos da relação entre os componentes da dieta e o desenvolvimento dessas doenças. Visando colaborar com mais informações sobre esse importante tema, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de, a partir do modelo experimental em animais, avaliar o efeito do consumo de dietas elaboradas com mortadelas defumadas e não defumadas sobre os parâmetros bioquímicos e os aspectos histopatológicos das células hepáticas e de cólon intestinal de ratos (*wistar*) machos. Foram utilizados 30 ratos com 90 dias de vida distribuídos em três grupos. O grupo Controle recebeu dieta padrão com caseína, o grupo Tradicional consumiu dieta elaborada com mortadela Bologna tradicional, como fonte de proteínas que foi completada pela caseína e o terceiro grupo consumiram a dieta elaborada com mortadela Bologna defumada também como fonte de proteína que foi completada com caseína (grupo Defumado), as dietas experimentais foram ofertadas diariamente por um período de 90 dias. Foram realizadas a análise da composição centesimal e identificação de ácidos graxos das mortadelas. Durante o experimento, semanalmente realizou-se avaliação do consumo semanal e ganho de peso dos animais. Após o período de 90 dias os animais foram pesados e anestesiados para coleta de sangue para análise das frações lipídicas plasmáticas. Foi realizada excisão, limpeza e pesagem do fígado, baço e gordura visceral e realizada análise histopatológica do fígado e cólon intestinal. A mortadela tradicional e a mortadela defumada continham respectivamente $15,27\% \pm 1,35$ e $15,85\% \pm 1,89$ de proteínas, $26,19\% \pm 0,43$ e $25,38\% \pm 0,272$ de gordura, $2,46\% \pm 0,049$ e $3,075\% \pm 0,45$ de carboidratos, $2,65\% \pm 0,507$ e $3,085\% \pm 0,45$ de resíduo mineral fixo. A proporção de ácidos graxos monoinsaturado:polinsaturado:saturado (M:P:S) detectado foi 2,7: 1: 2,2 na mortadela tradicional e 2,6: 1: 2,1 na mortadela defumada, não apresentando proporção recomendada. O consumo de dietas apresentou diferenças significativas entre os grupos e entre as semanas. O peso corporal dos animais do grupo defumado e tradicional aumentou de forma estável com o tempo e o grupo controle apresentou oscilações. Os níveis das frações lipídicas plasmáticas foram maiores nos animais do grupo defumado. Conclui-se que a qualidade e a proporção dos ácidos graxos monoinsaturado:polinsaturado:saturado (M:P:S) presentes nos dois tipos de mortadelas contribuíram significativamente para estes resultados e que, apesar de a composição de ácidos graxos serem semelhantes, os animais que consumiram a dieta contendo mortadela defumada apresentaram maior desequilíbrio no perfil lipídico, que pode ter sido ocasionado pelo maior consumo da dieta. Com relação a análise histopatológica do fígado, no grupo defumado foi observado maior concentração de infiltrado mononuclear no espaço porta hepático, que pode ter sido ocasionado pela presença de substâncias químicas presente na mortadela defumada pela deposição da fumaça líquida.

Palavras chave: mortadelas, perfil lipídico, análise histopatológica, ratos.

ABSTRACT

The highest intake of processed meat products in relation to red meat may increase the risk of colon cancer incidence and / or rectum and prostate. Despite ample evidence of this relationship further research is needed to indicate which foods are involved with this risk and to help clarify the mechanisms of the relationship between dietary components and the development of these diseases. Aiming to collaborate with more information about this important topic, this research was conducted with the purpose of, from the experimental animal model to evaluate the effect of consuming diets containing bologna and smoked not smoked on the biochemical and histopathological aspects of liver cells and intestinal colon of rats (Wistar) male. A total of 30 rats with 90 days of life divided into three groups. The Control group received a standard diet with casein, the group consuming traditional diet made with Mortadella Bologna traditional source of protein that was supplemented with casein and the third group ate a diet designed with smoked Mortadella Bologna as a source of protein that was supplemented with casein (Smoked group), experimental diets were offered daily for a period of 90 days. Were examined analysis of the composition and identification of fatty acids of bologna. During the trial, held weekly assessment of weekly intake and weight gain of animals. After 90 days the animals were weighed and anesthetized to collect blood for analysis of plasma lipid fractions. Excision was performed, cleaning and weighing of the liver, spleen and visceral fat and performed histopathological analysis of liver and intestinal colon. The traditional sausage and smoked sausage contained respectively $15.27\% \pm 1.35$ and $15.85 \pm 1.89\%$ protein, $26.19\% \pm 0.43$ and $25.38 \pm 0.272\%$ fat, $2.46\% \pm 0.049$ and $\pm 0.45\%$ carbohydrate, $2.65\% \pm 0.507$ and $3.085 \pm 0.45\%$ of ash. The proportion of monounsaturated fatty acids: polyunsaturated: saturated (M: P: S) detected was 2.7: 1: 2.2 and 2.6 in the traditional bologna: 1: 2.1 in smoked sausage, not showing the recommended proportion. The consumption of diets showed significant differences between groups and between weeks. The body weight of the animals and traditional smoked increased steadily with time and the control group showed oscillations. The levels of plasma lipid fractions were higher in group smoked. It is concluded that the quality and the proportion of fatty acids monounsaturated: polyunsaturated: saturated (M: P: S) present in both types of mortadella contributed significantly to these results and that although the fatty acid composition are similar, the animals consumed diet containing smoked sausage showed greater imbalance in the lipid profile, which may have been caused by increased food intake. Regarding the histopathological analysis of liver, smoked group was observed higher concentration of mononuclear cells within hepatic portal, which may have been caused by chemical substances present in sausage smoked by the deposition of the smoke settles

Key words: bologna, lipid profile, histopathology, rats

LISTA DE TABELAS

Dissertação

Tabela 1	Composição da dieta à base de Caseína a 12% (Dieta controle.....	43
Tabela 2	Composição da dieta com mortadela tradicional (Dieta Tradicional.....	44
Tabela 3	Composição da dieta com mortadela defumada (Dieta Defumada).....	44

Artigo

Table I	Composition of diets.....	
Table II	Adequation of values informs the labels of products with the legislation and values obtained.....	
Table III	Composition of fatty acids of mortadellas.....	
Table IV	Plasma levels of lipid fractions.....	

LISTA DE FIGURAS

Dissertação

Figura 1	Efeitos dos ácidos graxos araquidônico e eicosapentanóico sobre a ativação e inibição da produção de mediadores inflamatórios.....	29
Figura 2	Esquema do ensaio biológico do experimento.....	45

Artigo

Figure. 1	Food intake e body weight weikly.....	43
-----------	---------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIA: Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação
POF: Pesquisa de Orçamento Familiar
IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e estatística
WCRF: World Cancer Research Fund
WHO/FAO: World Health Organization/*Food and Agriculture Organization*
GC: Grupo controle
GT: Grupo tradicional
GD: Grupo defumado
PTN: Proteína
LIP: Lipídeos
CHO: Carboidratos
SM: Mix de minerais,
VIT: Mix de vitaminas
D-L met: D-L metionina
BIT.C.: Bitartarato de colina.
DAC: Doença arterial coronariana
DCV: Doenças cardiovasculares
NO₃: Nitrato
NO₂: Nitrito
CT: Colesterol total
TG: Triglicerídeo
BA: ácidos biliares
DMH: 1,2-dimetilhidrazina
HCAs: Aminas heterocíclicas
CRC: Câncer de cólon retal
EPA: ácido eicosapentaenóico
CCS: Centro de Ciências da Saúde
UFPB: Universidade Federal da Paraíba
UFPE: Universidade Federal de Pernambuco
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C: Consumo de ração semanal em gramas
RO: Dieta ofertada
RL: Rejeito limpo

RS: Rejeito sujo

CEA: Coeficiente de Eficácia Alimentar

PF: Peso corporal final

PI: Peso corporal

AG: Ácido graxo

VCT: Valor calórico total

SIC: Sistema de Informação de Carne

PE: Pernambuco

AIN: American Institute of Nutrition

CEPA: Comitê de Ética em Pesquisa Animal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1	Produto cárneo embutido.....	19
2.2	Produtos cárneos embutidos defumados.....	20
2.3	Padrão dietético moderno, consumo de produtos cárneos processados e doenças crônicas.....	22
2.4	Qualidade da gordura consumida e perfil das lipoproteínas plasmáticas.....	25
2.5	Hipóteses de associação do consumo de produtos cárneos processados e risco de câncer.....	31
2.5.1	Gordura.....	31
2.5.3	Aditivos conservantes.....	32
2.5.3	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.....	34
2.6	Análise histopatológica.....	35
2.6.1	Cólon intestinal.....	35
2.6.2	Fígado.....	37
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1	Questões éticas.....	40
3.2	Mortadelas.....	40
3.2.1	Composição das mortadelas (Informação do rótulo do produto).....	40
3.3	Análise da composição centesimal das mortadelas.....	41
3.3.1	Determinação da umidade.....	41
3.3.2	Determinação de resíduo mineral fixo (RMF).....	41
3.3.3	Determinação de gordura.....	41
3.3.4	Determinação de proteínas.....	41
3.3.5	Determinação de carboidratos (amido).....	41
3.3. 6	Valor energético total.....	42
3.4	Identificação e quantificação de ácidos graxos das mortadelas.....	42
3.5	Rotulagem	42
3.6	Dietas experimentais.....	42
3.6.1	Preparação das mortadelas para inclusão na dieta experimental.....	42
3.6. 2	Composição das dietas experimentais.....	43

3.7	Delineamento experimental.....	45
3.7.1	Animais.....	45
3.7.2	Ensaio biológico.....	45
3.8	Avaliação do ganho de peso.....	46
3.9	Consumo das dietas.....	46
3.10	Coeficiente de eficácia alimentar.....	46
3.11	Sacrifícios dos animais.....	47
3.12	Peso dos órgãos.....	47
3.13	Dosagens dos constituintes sanguíneos.....	47
3.14	Gordura visceral.....	48
3.15	Avaliações histopatológicas.....	48
3.16	Tratamentos estatístico.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50
	ANEXOS.....	63
	APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	64
	APÊNDICES.....	65
	APÊNDICE A – ARTIGO I	
	APÊNDICE B – ARTIGO II	

1 INTRODUÇÃO

O novo cenário formado pela urbanização e as alterações no padrão de vida, têm produzido um aumento nas despesas com alimentação fora de casa e crescimento na oferta de refeições rápidas e ampliação do uso de alimentos industrializados e processados em locais de trabalho ou em bares e restaurantes (ABREU, 2000). Dentre a variedade de alimentos industrializados produzidos pelas grandes indústrias, os produtos cárneos processados destacam-se pelo seu elevado consumo pela população em geral (DATAMARK, 2001). Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação, dentre os produtos embutidos cozidos, a mortadela é um dos mais consumidos no Brasil. Em 2006 foram consumidas 300 mil toneladas do produto (ABIA, 2008).

Contudo, o consumo freqüente dos produtos cárneos embutidos pode provocar danos à saúde em virtude da ingestão insuficiente ou excessiva de determinados nutrientes. Este padrão alimentar inadequado pode definir o estado de saúde, principalmente no que diz respeito às doenças crônicas degenerativas da idade adulta tais como obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (RABELO et al., 1999; MONTEIRO et al., 2007).

Segundo Kushi et al. (2006) o maior consumo de produtos cárneos processados em relação à carne vermelha pode elevar o risco da incidência do câncer de cólon e ou de reto e de próstata. Durante o processo de defumação, na produção da fumaça, são produzidas substâncias cancerígenas (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, principalmente 3-4 benzopirenos e os 1,2,5,6 dibenzoantrecenos) as quais, associadas às substâncias adicionadas durante o processamento (nitratos, nitritos e sal) contribuem para formação das nitrosaminas que podem danificar o DNA. No entanto, segundo Stołyhwo e Sikorski (2005), dependendo do tipo de processo de defumação pode haver redução da produção dessas substâncias, minimizando a possibilidade de ocorrências de desenvolvimento de mutagenicidade. Mesmo assim, o consumo de produtos cárneos embutidos defumados é reconhecido como um dos principais fatores de risco para diversos tipos de câncer, devido à elevada quantidade de gordura e a presença de substâncias químicas adicionadas ou produzidas durante o processo de defumação tais como, nitritos, nitratos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.

Apesar de várias evidências apontarem para o desenvolvimento da mutagenecidade são necessárias mais pesquisas para esclarecer alguns mecanismos da relação entre os componentes da dieta e o desenvolvimento dessas doenças, uma vez que os resultados dessas associações nem sempre são compatíveis com as várias questões metodológicas que podem limitar

as conclusões, principalmente quando se trata de pesquisas populacionais (McAFFE et al., 2010).

O modelo experimental em animais é uma importante ferramenta no estudo da origem das doenças e na pesquisa de novas técnicas terapêuticas para combatê-las ou mesmo preveni-las. A investigação de doença não-espontânea ou espontânea em animais, que pode ser reproduzidas de perto, em animais como o rato, é interessante por sua similaridade dos aspectos histológicos do fígado e da mucosa colônica do humano, e pode também minimizar vieses metodológicos (PINTO JR et al., 1999). Visando contribuir com mais informações sobre tema tão relevante, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de, a partir do modelo experimental em animais, avaliar e comparar o efeito do consumo de dietas elaboradas com mortadelas defumadas e não defumadas sobre os parâmetros bioquímicos e os aspectos histopatológicos das células hepáticas e de cólon intestinal de ratos machos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produto cárneo embutido

Produto cárneo é aquele na qual as propriedades da carne fresca tenham sido alteradas por um ou mais dos seguintes procedimentos: moagem, floculação ou emulsão, adição de temperos, adição de agentes da cura ou tratamento térmico (BRASIL, 1998). Embutidos são os produtos constituídos à base de carne picada e condimentada e, às vezes, curadas com forma geralmente simétrica, embutidas sob pressão em um recipiente ou envoltório de origem orgânica ou inorgânica, aprovado para este fim (ROÇA, 2002).

Os produtos cárneos processados são largamente consumidos pela população em geral. O aumento no mercado brasileiro destes produtos foi de 49% durante a última década (1991 a 2000), sendo o charque (22%), mortadela (28%), salame (36%), apresuntado (46%), presunto (51%), linguiça (52%) e salsichas (60%) os que apresentaram maior aumento (DATAMARK, 2001). Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (2007), dentre os produtos embutidos cozidos, a mortadela é um dos mais consumidos no Brasil, onde já foi registrado em 2006 o consumo de 300 mil toneladas do produto.

Com base nos dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) no ano de 1975 o consumo de alimentos processados foi de 18,9% do total de calorias consumidas pela população; já em 2002 e 2003, houve aumento para 26.5%, com considerável aumento de consumo de embutidos, alimentos considerados práticos e de menor custo (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2004). De acordo com Osório et al., (2009), os produtos processados tem sido largamente consumidos em todas as regiões do Brasil, inclusive no nordeste.

Os embutidos são classificados em três grupos, de acordo com as matérias primas utilizadas, forma de preparação e tecnologia de preparação (crus, escaldados e cozidos) (PARDI, 2001). Os embutidos cozidos são preparados a partir das emulsões cárneas, misturadas ou não com toucinho suíno em cubos, adicionados de nitrito, nitrato, sal e outros ingredientes para melhorar a preservação (PEGG; SHAHIDI, 2000). Os demais ingredientes inclusive o açúcar, temperos, fosfatos e outros são tipicamente incluídos à carne, e a adição do nitrito resulta nas características distintivas dos embutidos (SEBRANEK; BACUS, 2007). São considerados produtos embutidos cozidos, as mortadelas, salsichas, linguiças, salsichões (BRASIL, 1998).

De acordo com a Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000 as mortadelas tipo Bologna devem conter no máximo (máx) 3% de carboidratos totais. O percentual máximo de

umidade permitido é (max) 65% , gordura (máx) 30% e proteínas 35% com mínimo de (mín) 12%. (BRASIL, 2000).

2.2 Produtos cárneos embutidos defumados

Os produtos cárneos defumados compõem uma parte significativa da dieta humana. Possui excelente sabor, alto valor nutricional destacando-se pelo elevado nível de produção e grande variedade de produtos (DJINOVIC; POPOVIC; JIRA, 2008). O uso da fumaça na conservação de alimentos tem origem remota. Gregos e Romanos, depois de descobrirem a técnica de defumação passaram igualmente a fazê-lo mesmo depois da salga. O aperfeiçoamento desta técnica permite a defumação dos alimentos com diferentes tipos de madeira, uma vez, descoberto que o sabor desses alimentos dependia do tipo da madeira utilizada na defumação, tornando-os, em alguns casos, ainda mais saborosos. Existem ainda registros que atribuem a origem dos enchidos e fumados ao período primitivo quando os intestinos dos animais eram enchidos com carne moída. Pode igualmente encontrar-se ainda uma referência na Odisseia de Homero, em 99 a.C., a um enchido com sangue e gordura revestido de tripa de cabra (SISTEMA DE INFORMAÇÃO DA CARNE, 2009).

A defumação é definida como o processo de aplicação da fumaça aos produtos alimentícios, produzida pela combustão incompleta de algumas madeiras previamente selecionadas. Os defumados podem ser definidos como sendo os produtos que após o processo de salga e cura são submetidos à defumação, para conferir-lhe aroma e sabor característicos, além de maior vida de prateleira pela desidratação parcial (SILVA, 2000; BRESSAN, 2007).

O processo de defumação não é utilizado apenas com o objetivo de conservar o alimento, mas também parte de uma tecnologia capaz de conferir aos produtos defumados características organolépticas como cor, sabor e aroma agradáveis. A defumação pode ser realizada a frio e a quente. A primeira é aplicada a presuntos crus e outros produtos cárneos, e a temperatura pode variar de 25 a 35° C, em média por 1 a 16 dias. Nas instalações de defumação a frio os produtos podem ser colocados ainda úmidos. Na defumação a quente, o calor é gerado por qualquer tipo de fonte e a fumaça pode ser produzida a partir de serragem ou aparas grossas de madeira. A temperatura de defumação deve permanecer entre 60 e 85°C, controlada juntamente com a umidade relativa do ar, no interior da estufa. A defumação a quente é mais usada em embutidos crus frescos que deverão ser previamente secos, por um tempo suficiente para alcançar a coloração levemente avermelhada (SILVA, 2000). Para am-

bos os processos, as peças devem ser penduradas no defumador, respeitando-se certa distância entre elas, bem como da parede, garantindo assim a circulação da fumaça e do calor (SISTEMA DE INFORMAÇÃO DA CARNE, 2009).

Na produção de fumaça são utilizadas serragens de madeiras, entre elas a serragem de eucalipto, devido à facilidade do acesso a esse produto no mercado. Outras matérias que também podem ser utilizadas são as madeiras nobres como peroba, cedro e pau-marfim. A fumaça associada ao calor promove a redução da umidade, essencial no controle do desenvolvimento de microrganismos. Muitos componentes da fumaça tem efeito bactericida. Ainda há na fumaça o efeito dos fenóis que, por ser antioxidante, inibem a oxidação das gorduras e evitam um sabor desagradável (SILVA, 2000).

São conhecidos aproximadamente 300 compostos químicos presentes na fumaça utilizada para defumação dos alimentos. Dentre as substâncias mais importantes encontram-se os hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis e compostos de anel aromático como os 3-4 benzopirenos e os 1,2,5,6 dibenzoantrecenos considerados potencialmente carcinogênicos (SILVA, 2000).

A composição da fumaça é determinada por vários fatores, dentre eles destacam-se: a temperatura de queima da madeira (altas temperaturas de combustão sempre acarretam produção elevada de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPA) enquanto que métodos controlados tendem a produzir fumaças praticamente isentas dos compostos carcinogênicos); presença de ar durante a queima; técnicas empregadas na geração da fumaça; tipo e quantidade de madeira queimada em relação ao tempo de queima, distância do produto e fonte de fumaça e o resfriamento da fumaça, aquecimento e umidificação (STOLYHWO; SIKOSRSKI, 2005; SILVA, 2000).

No processo de defumação dos diversos alimentos, a fumaça pode ser aplicada de duas maneiras distintas: fumaça natural e fumaça líquida. A fumaça natural é produzida da madeira em geradores por queima, fricção e vapor seco à temperatura de 350°C ou menos, na presença de ar quente. Em temperaturas inferiores a 260°C, a decomposição da madeira elimina pequenas quantidades de substâncias voláteis (SILVA, 2000).

Em processo alternativo, a fumaça natural é depurada para remoção de resíduos indesejáveis, com redução dos compostos 3-4 benzopirenos e os 1,2,5,6 dibenzoantrecenos considerados potencialmente carcinogênicos e os componentes necessários à defumação são dissolvidos em água para a preparação da fumaça líquida (GONULALANA et al., 2003). A fumaça líquida pode ser aplicada diretamente sobre o produto dentro de uma câmara, por aspersão sobre as peças, pela ação direta no material moído ou emulsionado, pela imersão de produtos

em um recipiente que a contém ou borrifando-se os produtos com a fumaça em solução (HATULLA et al., 2001).

Segundo Gonulalan (2003), a técnica de aplicação direta de fumaça líquida é uma das mais fáceis e precisas, com a vantagem de tornar mais simples e barato o processo de defumação, dispensando equipamentos, instalações e mão-de-obra qualificada. Além disso, a fumaça líquida proporciona uma maior uniformidade de sabor e cor.

2.3 Padrão dietético moderno, consumo de produtos cárneos processados e doenças crônicas

Segundo Osório et al. (2009), uma alimentação desequilibrada, quantitativa e/ou qualitativamente, por excesso ou escassez, tem sido uma das principais causas de disfunções e doenças crônicas não transmissíveis. Os padrões dietéticos modernos, na maioria das vezes inadequados foram inseridos ao sistema de vida globalizado, e apesar de não haver risco imediato à saúde, estes padrões alimentares inadequados podem potencializar o risco crescente de doenças crônicas como doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes e alguns tipos de câncer (EUROSTAT, 2006).

Segundo Gracia (2009), a prevalência do sobrepeso e da obesidade na infância tem aumentado significativamente, surgindo como um alerta para uma epidemia mundial. Este fato é preocupante, uma vez que as alterações metabólicas e consequências oriundas da obesidade, antes evidentes apenas em adultos, já podem ser observadas em faixas etárias mais jovens.

Algumas pesquisas têm sido desenvolvidas com a aplicação de questionários simplificados e direcionados para a avaliação do consumo de alimentos específicos, associados ao risco de doenças crônicas. Neuman et al. (2007), com o objetivo de identificar os padrões de consumo alimentar dos residentes da área urbana do Município de São Paulo, aplicaram um questionário de frequência alimentar e investigaram a associação desses padrões com fatores de risco biológicos para doenças cardiovasculares. Os resultados apresentados denotam tendências desfavoráveis para o padrão alimentar na população investigada, visto que três dos quatro padrões de consumo identificados (cafeteria, tradicional e aterogênico) associaram-se de forma significativa com fatores de risco para doenças cardiovasculares. O padrão alimentar aterogênico, constituído por carnes bovinas e suínas, feijoada, embutidos, ovos e bebidas alcoólicas, foram escolhidos por pessoas que desejam fazer uma refeição rápida e mais barata.

Teixeira et al. (2007) aplicaram um questionário simplificado de auto-avaliação com a finalidade de caracterizar a qualidade e a quantidade de produtos inseridos na dieta de adoles-

centes. A pesquisa indicou o consumo de refeições rápidas destacando-se o hambúrguer como sendo ingerido em frequência elevada.

O padrão alimentar tipicamente ocidental foi identificado como dieta rica em carnes vermelhas e produtos cárneos, pobre em frutas e legumes e acompanhado de um estilo de vida com ingestão de álcool, tabagismo e baixos níveis de atividade física (KONTOGIANNI et al. 2008). Heidemann et al. (2008), identificaram que este tipo de dieta está associado com um risco 22% maior de mortalidade por doenças cardiovasculares comparado a um padrão dietético prudente rico em frutas e verduras, legumes, aves e grãos integrais.

Kelemen et al. (2005) constataram que o consumo da carne vermelha e de alguns produtos cárneos processados foram associados com um risco aumentado de mortalidade de doença arterial coronariana, sendo importante considerar que a maioria dos estudos prospectivos tem calculado o grau de risco comparando o menor com o maior quintil de consumo de carne, e assim excluindo a maioria dos consumidores que ingerem moderada quantidade de carne. Em pesquisa realizada por Kontogianni et al. (2008) os participantes que consumiram mais do que 8 porções (60g) de carne vermelha ou mais do que 12 porções de carne branca por mês tinham 4,9 e 3,7 vezes mais chances de síndrome coronariana aguda respectivamente, comparado com o menor consumo de carne (< 4 porções e <8 porções por mês respectivamente). No entanto, esses resultados devem ser analisados comparando-se a ingestão ótima de porções de carne com base em pesquisas mais recentes conforme Lichtenstein et al., (2006) que recomenda o consumo de $\leq 142\text{g/dia}$ de peixes, aves e carnes magras. Os autores do artigo citado (Kontogianni et al., 2008) com base na referência do Supreme Scientific Health Council (1999), mencionam que o consumo seguro de carne por dia seria de 40g incluindo 8g/dia de carne vermelha e 32g/dia de frango, o que não é compatível com os 142g/dia mesmo incluindo o consumo de peixe, pois as recomendações atuais de alimentação adequada enfatiza a um consumo alimentar variado nos dias da semana.

Nas pesquisas epidemiológicas tem-se associado o consumo de carne vermelha e produtos cárneos processados com o desenvolvimento de duas das principais doenças crônicas existentes no mundo: as doenças cardiovasculares e o câncer de cólon (CROSS et al., 2007; GIOVANNUCCI et al., 1994; KELEMEN et al., 2005; KONTOGIANNI et al., 2008).

Embora estas pesquisas sejam úteis na avaliação de múltiplos fatores de risco e na análise de padrões alimentares torna-se impossível isolar os efeitos da carne vermelha especificamente. Como consequência, tem sido difícil para os pesquisadores fornecer dados convincentes sobre o mecanismo da associação entre a carne vermelha e as doenças cardiovasculares. No entanto, segundo McAfee (2010) ao investigar a contribuição da ingestão da gordura

da carne é importante considerar a composição de ácidos graxos da dieta total, ao invés de avaliar isoladamente o teor de gordura da carne. Segundo Aggett (2005), aproximadamente um terço de todos os tipos de câncer é causado pela ingestão imprópria e desequilibrada de componentes da dieta. Norat (2005), afirma que existe uma relação entre o câncer de cólon e o consumo de produtos cárneos processados.

No relatório do World Cancer Research Fund e American Institute for Cancer Research foram sintetizadas evidências neste campo e concluiu-se que a investigação apoiando a associação entre o consumo de carne processada e o risco de câncer de cólon foi convincente (KUSHI et al., 2006). As carnes processadas contêm vários componentes que podem aumentar o risco de câncer para o consumidor, como por exemplo, a grande quantidade de gordura, a composição dos ácidos graxos, e formação de agentes cancerígenos como aminas heterocíclicas, hidrocarbonetos aromáticos e nitrosaminas que são produzidas durante o cozimento em altas temperaturas e/ou pela fumaça produzida durante o processo de defumação (BINGHAM et al., 2002; KUSHI et al., 2007).

No entanto, a Organização Mundial de Saúde (WHO/FAO, 2002) reconhece que são necessárias mais pesquisas para elucidar alguns mecanismos da relação entre os componentes da dieta e o desenvolvimento dessas doenças. Embora existam pesquisas documentando essas associações, os resultados nem sempre são compatíveis e existem várias questões metodológicas que poderiam limitar as suas conclusões (McAFFEE et al. 2010). É muito difícil quantificar uma dieta com precisão, especialmente avaliar os efeitos dos componentes dos alimentos individuais, determinando as correlações múltiplas que existem entre os diferentes elementos (BOYLE, 2008; McAFEE, 2010).

As pesquisas falham consistentemente em não analisar os tipos de carnes de forma isolada. Provavelmente, as maiores limitações destas pesquisas são as discrepâncias no modo como elas definem carne vermelha e carne processada (FLOOD et al., 2003). Larsson et al. (2005) encontraram nos seus resultados um risco significativamente elevado de câncer color-retal com o consumo de carnes vermelhas, no entanto, o bacon, cachorro-quente, carne do almoço e o presunto estavam agrupados como sendo carnes vermelhas. Tem sido bastante considerável sobre os verdadeiros fatores de risco potenciais para o câncer: a carne por si só, ou seu alto teor de gordura? Substâncias cancerígenas, adicionadas no processamento ou geradas durante a cocção?

Segundo Kushi et al. (2006), a associação com o câncer de cólon retal é mais forte para quem consome a carne vermelha processada do que a carne vermelha não processada, os autores referem ainda, a importância de caracterizar que o uso comum desse termo “processa-

do” inclui os produtos cárneos que são preservados pela adição de aditivos químicos ou defumados, curados ou salgados incluindo presuntos, toucinhos, defumados, salame.

O risco de carcinogenicidade tem sido geralmente, atribuído ao consumo do tipo de carne (vermelhas ou processadas), ao método de cozimento, à quantidade consumida e ao risco individual genético (LARSSON; WOLK, 2006), a formação de compostos mutagênicos, incluindo HCAs e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), formados dentro da carne cozida em altas temperaturas (ALAEJOS; GONZALEZ; AFONSO, 2008). O teor de ferro (heme) na carne vermelha pode gerar radicais livres no cólon provocando danos ao DNA. Substâncias usadas para processar a carne (nitratos, nitritos e sal) também podem contribuir para a formação de nitrosaminas, que podem danificar o DNA, e é possível que o teor de gordura da carne contribua para risco (KUSHI et al., 2006).

As recomendações do American Institute for Cancer Research para prevenção do câncer indica mudanças de comportamento em relação à ingestão alimentar: limitar o consumo de carnes processadas e carnes vermelhas; escolher carnes magras e em pequenas porções; usar a carne como uma das partes da dieta, e não como o foco de uma refeição; comer cinco ou mais porções variadas de frutas e legumes todos os dias, pois são especialmente ricos em nutrientes que podem proteger contra o câncer e podem ser uma fonte saudável de proteínas em do que carnes vermelhas. Apesar do cozimento da carne em altas temperaturas, como é o caso da fritura, produzir substâncias cancerígenas potenciais deve-se ter o cuidado de ingerir a carne a carne bem cozida, evitando-se, no entanto a carbonização, com intuito de destruir bactérias nocivas e parasitas, mas evitar a carbonização (KUSHI et al., 2006).

2.4 Qualidade da gordura consumida e perfil das lipoproteínas plasmáticas

Muito se tem divulgado na literatura que a quantidade e o tipo de gordura alimentar exercem influência direta sobre fatores de riscos cardiovasculares, tais como a concentração de lipídeos e de lipoproteínas plasmáticas (LOTTEMBERG, 2009). De acordo com a preconização para uma dieta saudável e preventiva de doenças crônicas constantes em publicação da World Health Organization (2003) e no Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2006), os lipídeos não devem extrapolar 30% das calorias totais da dieta, e a qualidade do lipídio é um ponto fundamental que deve ser observado. Recomenda-se que a gordura saturada seja menor do que 10% do valor calórico total (VCT), as polinsaturadas devem atingir até 10% das calorias totais e as monoinsaturadas completam o percentual.

Os lipídeos têm sua importância para o organismo por estarem envolvidos no abastecimento e no armazenamento de energia, precursores da síntese de hormônios, componentes da bile e da membrana celular e participam de complexos sistemas de sinalização intracelular. Derivados de ácidos graxos atuam na síntese de prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanas (MARTIN et al., 2006).

Aproximadamente 98% da gordura dos alimentos encontram-se na forma de triglicerídeos, formados por uma molécula de glicerol, esterificada a três ácidos graxos, denominados saturados, monoinsaturados, polinsaturados (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2010). Os ácidos graxos saturados mais frequentemente presentes na alimentação humana são: láurico, mirístico, palmítico e esteárico (que variam de 12 a 18 átomos de carbono). Entre os monoinsaturados, o mais frequente é o ácido oléico que contém 18 átomos de carbono. Quanto aos polinsaturados, podem ser classificados como $\omega 3$ (eicosapentaenóico, docosahexaenóico e linolênico), ou $\omega 6$ (linolêico), de acordo com presença da primeira dupla ligação nos respectivos carbonos, a partir do grupo hidroxila (CAMPBELL, 1995).

A gordura de origem alimentar e a endógena são transportadas no plasma por meio das lipoproteínas, constituídas por lipídeos neutros, como colesterol-éster e triglicérides, em seu núcleo hidrofóbico, além de vitaminas lipossolúveis. Os fosfolípidos, o colesterol livre e as apolipoproteínas são transportados na sua superfície hidrofílica. As lipoproteínas são responsáveis pelo transporte dos lipídeos na circulação linfática, sanguínea e no interstício. Os ácidos graxos livres são transportados pela albumina (LOTTEMBERG, 2009).

As lipoproteínas são classificadas em quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), de densidade intermediária (IDL), de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL). No plasma, são continuamente remodeladas durante o trânsito no compartimento plasmático, em razão da ação de enzimas e de proteínas de transferência. O papel fundamental dos quilomícrons e das VLDL é transportar, respectivamente, os triglicerídeos alimentares e os de síntese hepática (gordura endógena). As LDL são as principais lipoproteínas transportadoras de colesterol proveniente do fígado para os tecidos periféricos. As HDL são responsáveis pela remoção do colesterol de tecidos periféricos e de outras lipoproteínas, enviando-os ao fígado, o que caracteriza o denominado “transporte reverso de colesterol” (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2010; LOTTEMBERG, 2009).

Segundo Mahan e Escott-Stump (2010), o consumo em excesso de ácidos graxos saturados pode elevar o colesterol sanguíneo em todas as frações lipídicas (LDL e HDL), especialmente quando substituem os carboidratos e outros ácidos graxos. As LDL em excesso na circulação participam da formação da placa de ateroma, após serem modificadas por oxida-

ção. Pelo fato de a captação da LDL oxidada não regular a atividade dos receptores “scavengers”, sua remoção contínua leva ao acúmulo de colesterol intracelular, o qual é reesterificado pela ACAT (*acil cholesterol aciltransferase*), enzima responsável pelo armazenamento do colesterol no citoplasma. Altas concentrações de LDL elevam o risco cardiovascular, mas sabe-se que o seu tamanho pode ser preditor ainda mais importante (LOTTEMBERG, 2009).

O colesterol pode se apresentar em duas formas, presentes nas lipoproteínas plasmáticas (colesteril-éster e livre), sendo que aproximadamente de 20% a 30% encontram-se na forma livre e são transferidos rapidamente entre as diferentes lipoproteínas plasmáticas e entre células e lipoproteínas (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2010). A via mais significativa para sua excreção é o sistema hepatobiliar, na forma de colesterol ou de ácido biliar, este último sintetizado sob ação da enzima 7- α hidroxilase. O colesterol é liberado das células por meio de três mecanismos: alteração na estrutura química (sob a forma de ácidos biliares e hormônios); secreção, acoplado a apolipoproteínas e fosfolípidos; e transferência para lipoproteínas do plasma. No entanto, é necessário um mecanismo de transporte reverso de colesterol para manter o equilíbrio tecidual, que permita sua excreção na bile. Esse movimento é essencial para a prevenção de acúmulos de colesterol, como os que ocorrem na lesão aterosclerótica e nos xantomas característicos da hiperlipidemia (LOTTEMBERG, 2009).

Os ácidos graxos saturados mirístico (C14: 0), palmítico (C16: 0) e esteárico (C18: 0), embora tenham sido significativamente associados com o risco de doença arterial coronariana por promoverem o aumento dos níveis plasmáticos de colesterol total (HU et al., 1998), os pesquisadores Kelly et al. (2002) e Mensink et al. (2003) afirmam que uma distinção deve ser feita para o ácido esteárico (C18: 0) visto que este ácido promove pouco efeito no aumento do colesterol em humanos. Lee e Carr (2004) explicam que o ácido palmítico pode elevar a concentração plasmática de colesterol e de LDL-C quando comparado à gordura poli-insaturada pelo fato de aumentar a atividade da ACAT hepática, induzindo o enriquecimento de colesterol éster em lipoproteínas ricas em Apo B e aumentar a trigliceridemia como resultado do estímulo da secreção hepática de lipoproteínas contendo Apo B-100 (JACKSSON et al., 2006). Aparentemente, o ácido mirístico apenas se alonga, sendo mais rapidamente incorporado a triglicérides celulares, o que o torna o mais importante ácido graxo na elevação da colesterolemia em comparação a outros ácidos graxos saturados (LOTTEMBERG, 2009). O ácido esteárico, segundo Rioux (2000) não eleva a colesterolemia pelo fato de que a sua desidrogenação é mais veloz do que o alongamento da cadeia, fazendo com que seja mais rapidamente convertido em oléico no fígado, por meio das dessaturases.

Os ácidos graxos que não podem ser produzidos pelo organismo são denominados essenciais, sendo necessária sua obtenção pelo consumo na dieta (WEBB; O'NEILL, 2008). Em humanos, os principais ácidos graxos essenciais polinsaturados com 18 moléculas de carbono são o ácido linoléico ($\omega 6$) e o alfa-linolênico ($\omega 3$), necessários para manter, sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos. Esses ácidos graxos também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular, sendo denominados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo a partir dos ácidos graxos provenientes da síntese *de novo* (YOUUDIM et al., 2000; YEHUDA et al., 2002; SMITH et al., 2007). São produzidos pelo organismo a partir dos ácidos linoléico e alfa-linolênico, pela ação de enzimas alongase e dessaturase. As alongases atuam adicionando dois átomos de carbono à parte inicial da cadeia, e as dessaturases agem oxidando dois carbonos da cadeia, originando uma dupla ligação com a configuração *cis* (MARTIN, 2006).

Os ácidos graxos poliinsaturados modulam diversos genes envolvidos nos processos oxidativos, aumentando, por exemplo, a expressão de receptores ativadores por proliferadores de peroxissoma (PPARs), e bloqueiam aqueles relacionados com lipogênese.

Segundo Lotemberg (2009), a ingestão adequada das duas séries de ácidos graxos ($\omega 3$ e $\omega 6$) garante o equilíbrio necessário ao controle dos processos de coagulação e de inflamação por serem precursores da síntese de prostaglandinas e leucotrienos, envolvidos em processos de coagulação e inflamação, respectivamente (Figura 1). Os $\omega 6$ participam da via inflamatória e os $\omega 3$ ativam a via anti-inflamatória. A produção de eicosanóides pelas plaquetas e células da parede vascular modula processos fisiológicos, incluindo complacência arterial, fluidez, agregação plaquetária e inflamação, minimizando o risco de aterosclerose. O balanço entre a produção das prostaglandinas é essencial à prevenção de complicações trombóticas.

Por meio das dessaturases, o ácido linoleico é convertido a araquidônico e o ácido alfa-linolênico, a eicosapentaenóico. O ácido araquidônico é o precursor das prostaglandinas E2 (PGE2) e leucotrienos B4 (LTB4), os quais são importantes eicosanóides pró-inflamatórios, e a tromboxana A2 (TXA2), potente vasoconstritor e agregador plaquetário. Na outra via, o ácido eicosapentaenóico é convertido em prostaglandinas E3n (PGE3), leucotrieno B5 (LTB5) e a tromboxana A3 (TXA3), com ações potencialmente anti-inflamatórias e antitrombóticas. Dessa forma, os $\omega 3$ e os $\omega 6$ competem por enzimas em vias metabólicas comuns. O ácido araquidônico é também precursor da síntese de epóxidos, potentes vasoconstritores, e responsáveis pelo aumento do depósito de cálcio nas células endoteliais (LOTTEMBERG, 2006).

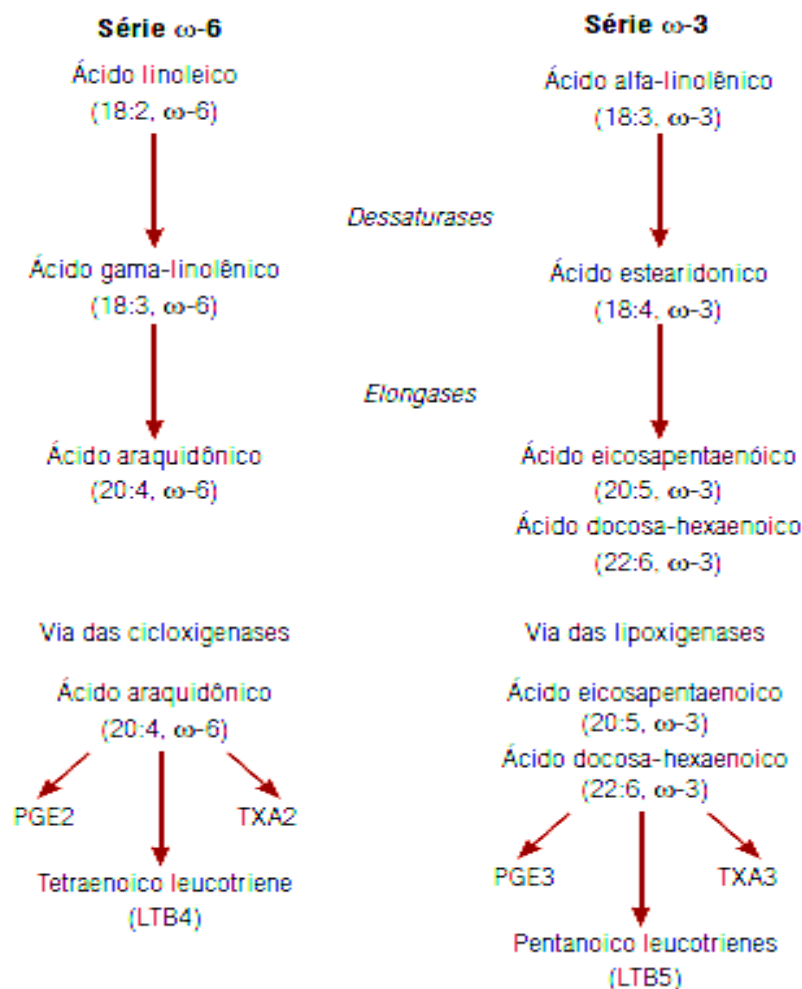


Figura 1 Efeitos dos ácidos graxos araquidônico e eicosapentaenóico sobre a ativação/inibição da produção de mediadores inflamatórios. Modificado por: James et al. (2005).

Com relação à proporção ótima dos ácidos graxos das famílias ω 6 e ω 3 é importante entender inicialmente, que ambos competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e alongamento da cadeia. Embora essas enzimas tenham maior afinidade pelos ácidos da família ω 3, a conversão do ácido alfa-linolênico em AGPI-CL é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoléico na dieta. Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos ω 6 e ω 3 assume grande importância na nutrição humana, resultando em várias recomendações que têm sido estabelecidas por autores e órgãos de saúde, em diferentes países (MARTIN et al., 2006).

Estima-se que a razão ω 6: ω 3 na dieta das pessoas que viveram no período que antecedeu a industrialização, estava em torno de 1:1 a 2:1, devido ao consumo abundante de vegetais e de alimentos de origem marinha, contendo ácidos graxos ω 3. Com a industrialização, ocorreu um aumento progressivo dessa razão, devido, principalmente, à produção de óleos

refinados oriundos de espécies oleaginosas com alto teor de ácido graxos $\omega 6$ e à diminuição da ingestão de frutas e verduras, resultando em dietas com quantidades inadequadas de ácidos graxos $\omega 3$. Nas últimas décadas tem-se determinado, em diversos países, que a ingestão média de ácidos graxos resulta em relações $\omega 6$: $\omega 3$ que estão entre 10:1 a 20:1, ocorrendo registros de até 50:1 (SIMOPOULOS, 2002; SIMOPOULOS, 2009). A necessidade de diminuir a razão $\omega 6$: $\omega 3$ nas dietas modernas também tem sido sugerida a partir dos resultados de algumas pesquisas clínicas realizadas na última década. Entre esses se destacam os de Lorgeril et al. (1994) com a diminuição de 70% na taxa de mortalidade em pacientes com doença cardiovascular, quando a razão $\omega 6$: $\omega 3$ na dieta foi de 4:1. As razões de 2:1 a 3:1 têm sido recomendadas por Masters (1996), o que possibilita uma maior conversão do ácido alfa-linolênico em ácido docosahexaenóico (ADH), que alcança o seu valor máximo em torno de 2,3:1. O ácido docosahexaenóico (ADH) atua influenciando as propriedades físicas das membranas cerebrais, as características dos seus receptores, as interações celulares e a atividade enzimática (YEHUDA et al., 2002).

As Dietary Reference Intakes (DRIs) do Institute of Medicine recomenda uma ingestão de até 30% de gordura total na dieta, sendo até 20% de gordura monoinsaturada, até 10% de gordura polinsaturada e o no máximo 7% de gordura saturada gerando uma proporção M:P:S de 2,1:1:0,7 (DRIs, 2005).

Reaven et al. (1994) verificaram que o ácido oléico quando comparado à gordura saturada, reduz a concentração plasmática de LDL-C e não provoca oxidação das LDL. Segundo Jones et al. (1994) uma das possíveis razões pelas quais o ácido oléico não eleva o LDL-C é o fato de ser um melhor substrato para a ACAT no fígado. Portanto, o excesso de colesterol na forma livre é rapidamente esterificado, não induzindo a supressão de receptores de LDL.

A ingestão adequada (AI) e a Recommended Dietary Allowance (RDA) não é definida para o total de gordura, por que não existem dados suficientes para determinar um exato nível de consumo de gordura no qual o risco de inadequação ou prevenção de doença crônica ocorre. Uma Aceitável Faixa de Distribuição de macronutrientes (AMDR), foi estimado para o total de gordura de 20 a 35% de energia. Baseado no consumo médio habitual de energia, estima-se que um menor limite de 5% da energia vai atender a ingestão adequada (AI) para o ácido linoléico. Um limite superior para o ácido linoléico é fixado em 10% da energia por três razões: 1- o consumo alimentar individual na população norte-americana raramente ultrapassa os 10% da energia; 2- a evidência epidemiológica para a segurança dos consumos superiores a 10 por cento dos de energia são geralmente escassos, 3- e o consumo elevado de ácido linoléico cria um estado pró-oxidante que pode predispor a diversas doenças crônicas, como doença

coronariana e câncer. Portanto, o intervalo de 5 a 10% da energia é estimado para ácidos graxos polinsaturados $\omega 6$ (ácido linoléico). O ácido α -linolênico é estimada em 0,6-1,2 % da energia, sugerindo que o maior consumo de ácido α -linolênico, ácido eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) pode proporcionar algum grau de proteção contra doenças cardíacas (DRIs, 2005).

2.5 Hipóteses de associação entre consumo de produtos cárneos processados e o risco de câncer.

Várias hipóteses tentam explicar por que o consumo de carne processada está relacionado ao maior risco de câncer de colón retal. Carnes processadas diferem da carne vermelha por apresentar quatro diferenças: 1 - contêm frequentemente mais gordura do que a carne vermelha; 2- contêm aditivos específicos, notavelmente sal, nitrito e nitrato de sódio; 3- o armazenamento de longo tempo pode provocar a oxidação do colesterol e 4- durante o processamento e a cocção pode ocorrer a formação de aminas de heterocíclicas (HCAs), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), e N-nitroso. Além disso, pessoas que consomem grande quantidade de carnes processadas podem ter deficiências em protetores fitoquímicos e/ou estar em maior risco considerando que este tipo de alimentação associado ao sedentarismo pré-dispõe à obesidade e a resistência insulínica. (SANTARELLI et al.; 2008).

2.5.1 Gordura

Os componentes lipídicos, especialmente os ácidos graxos, estão presentes nas mais diversas formas de vida, desempenhando importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos (MARTIN et al., 2006). No entanto, as relações entre lipídeos e estados da doença também têm sido pesquisadas intensivamente (McNAMARA, et al. 2006).

Segundo Santarelli (2008), o consumo elevado de gordura favorece a secreção de ácidos biliares para o duodeno, e ativando a enzima 7-alpha-dehidroxilase bacteriana que produz ácidos biliares secundários. Estes ácidos biliares, ácidos deoxicólico e litocólico, quando presente em elevada quantidade podem promover carcinogênese do cólon em modelos animais (SANTARELLI, 2008). Segundo Lapre et al. (1993), uma dieta rica em gordura aumenta a concentração do potencial citolítico dos ácidos biliares e ácidos graxos no cólon, que podem

danificar o epitélio colônico e induzir a proliferação celular, um efeito que pode ser bloqueado por uma dieta contendo níveis adequados de cálcio.

Pence et al. (1995) verificaram que dieta com 20% de gordura aumentou significativamente o número de adenoma do cólon de ratos dimetilhidrazina DMH- induzidos, qualquer que fosse a proteína e as fontes de gordura (carne, caséina, óleo de milho ou o sebo de carne). Entretanto, segundo Santarelli et al. (2008), não foram encontrados efeitos da gordura saturada na carcinogênese do cólon retal. Sesink et al. (2000) verificaram que não houve diferença na taxa de proliferação celular epitelial nos ratos alimentados com dietas com 10%, 25% ou 40% da energia derivada de gordura. Já na pesquisa realizada por Khil e Gallaher (2004), uma dieta formulada com sebo de bovinos (14%) reduziu o número de focos de criptas aberrantes e aumentou a apoptose celular no cólon de ratos dimetilhidrazina DMH-induzidos, comparados com o grupo controle que recebeu dieta com óleo de soja.

No entanto, estas pesquisas não contêm dados consistentes para que se possa associar a gordura com o risco de câncer. Outro fato a ser considerado é que as dietas ricas em gorduras são dietas de alto teor calórico e o equilíbrio entre a ingestão energética e a atividade física também é considerado um importante fator de risco. Assim, é possível que o consumo de produtos cárneos processados gordurosos aumente o risco de câncer de cólon, porque fornece aos consumidores altos teores de calorias (SANTARELLI et al., 2008). Ao investigar a contribuição da ingestão de gordura no consumo de carne é importante considerar a composição total de ácidos graxos da dieta, ao invés de analisar somente o teor e a qualidade da gordura da carne (LI et al., 2005).

2.5.2 Aditivos Conservantes

Dentre os aditivos conservantes adicionados à mortadela, o nitrito e o nitrato merecem destaque especial; o nitrato restringe o crescimento bacteriano devido à inibição da catalase pela hidroxilamina formada pela redução do nitrato e o consequente acúmulo de H_2O_2 , a qual alguns microrganismos são muito sensíveis. Os nitritos de sódio e de potássio adicionados aos produtos derivados de carne favorecem ainda o desenvolvimento da cor e sabor característicos desses produtos (SILVA, 2000; HONIKEL, 2008).

O nitrito tem um papel fundamental na carne processada como agente bacteriostático e bactericida, inibe fortemente as bactérias anaeróbias, especialmente a *Clostridium botulinum* e contribui para o controle de outros microrganismos. Os efeitos do nitrito e os mecanismos de inibição diferem nas diferentes espécies bacterianas. A efetividade de nitrito como agente

antibotulínico depende de vários fatores inclusive pH, concentração de cloreto de sódio, redutores e conteúdo de ferro entre outros (HONIKEL, 2008).

Quando o nitrito é adicionado, a carne rapidamente fica com coloração marrom devido à formação da metamioglobulina, o nitrito atua como um forte oxidante do pigmento heme que por sua vez, se reduz a óxido nítrico. O óxido nítrico reage com metamioglobina e subseqüente reações de redução convertem o heme oxidado por redução da mioglobulina pelo óxido nítrico formando a coloração típica de carne curada após cozimento. O sabor característico das carnes curadas é promovido pela adição do nitrito e suas reações, no entanto essas reações químicas ainda não estão bem esclarecidas, o sabor característico pode ser devido a supressão da oxidação lipídica pelo nitrito e outros oxidantes (PEGG; SHAHIDI, 2000; HONIKEL, 2008). Tem sido preocupação difundida das pesquisas a relação dos efeitos de exposição do nitrato (NO_3) e nitrite (NO_2) de fontes dietéticas e ambientais e seu potencial risco a saúde humana e questionamentos foram levantados quanto a segurança da utilização de nitritos e nitratos em produtos cárneos (MCKNIGHT et al., 1999; HSU; ARCOT; LEE, 2009). Segundo Duncan et al., (1997), o nitrato pode ser reduzido a nitrito na cavidade oral e no estômago. Uma vez no estômago, o nitrito pode reagir com compostos que contem radical amino e formar um grupo de carcinógenos conhecido como combinações de N-nitroso (DRABIK-MARKIEWICZ et al., 2009; HSU; ARCOT; LEE, 2009).

De acordo com Sebranek e Bacus (2007), nenhuma destas questões constitui preocupações relevantes na utilização de nitratos e nitritos na atual recomendação de níveis de utilização em carnes processadas. A Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998 aprova o Regulamento Técnico: "Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para Carne e Produtos Cárneos", nitrito de sódio e potássio podem ser utilizados, combinados ou isolados na conservação de carnes picadas ou trituradas, a quantidade não pode ultrapassar 0.0015 g/100g (BRASIL, 1998). Segundo Silva (2000), sob o ponto toxicológico deve-se ter em mente que somente, quando em excesso, o nitrito pode ser consideravelmente prejudicial à saúde do consumidor, tanto o nitrito como as nitrosaminas que dele se derivam.

Segundo o relatório do World Cancer Research Fund e American Institute for Cancer Research, o nitrato e o nitrito, substâncias usadas para processar a carne podem contribuir para a formação de nitrosaminas que podem danificar o DNA, sendo possível que o teor de gordura da carne contribua para risco de câncer de colon retal. Recomenda ainda limitar o consumo de carnes vermelhas processadas e optar pelo consumo de peixes, aves ou grãos e, caso consuma a carne vermelha, escolher por cortes magros e porções menores grelhadas ou assadas ao invés de frituras (KUSHI et al., 2006).

2.5.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) representam um grupo de compostos orgânicos constituídos por dois ou mais anéis aromáticos condensados que são amplamente distribuídas geograficamente e permanecerem no ambiente por um longo tempo (HOWSAM; JONES; INESON, 2000). Os HPA podem ser encontrados em todo o ambiente em água (BARTH et al., 2007), atmosfera (CHUNG-YIH; HONG SHEN; JEANG-HUNG, 2006) e sedimentos (LAUENSTEIN; KIMBROUGH, 2007). Os alimentos podem ser contaminados por duas rotas diferentes: depósito direto de HPA da atmosfera como contaminantes ambientais em diferentes frutos e produtos hortícolas (FISMES et al., 2004; TAO et al., 2006) e produção de HPA durante o processamento térmico dos alimentos, por exemplo, na defumação de alimentos de origem animal (SIMKO, 2005; STOLYHWO; SIKORSKI, 2005; VISCIAINO, 2008).

Na produção de fumaça, durante o processo de combustão, compostos indesejáveis podem ser formados, principalmente os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA). No processo de defumação das carnes ou produtos cárneos, se tiver contato direto com a chama, ocorrerá pirólises das gorduras da carne gerando HPA que será depositada na carne (JANOSZKA et al., 2004). Alguns desses compostos são considerados cancerígenos em animais de laboratório e têm sido associados ao câncer de mama, cânceros do pulmão e cólon humano (SIMKO, 2002).

Segundo Stolyhwo e Sicorski (2005), o fator mais importante que influencia a formação de HPA é a temperatura de geração da fumaça. Ao baixar a temperatura dos aglomerados de madeira ou serragem para 300-400°C e usando filtros, o conteúdo de HPA na fumaça pode ser reduzido cerca de 10 vezes. A defumação sob condições modernas, com defumadores contendo filtros de fumaça, não conduz a uma significativa contaminação dos produtos com HPA cancerígenos.

Segundo o Comitê Científico de Alimentação Humana (2002), 15 compostos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são considerados causadores da mutagenicidade em células somáticas em animais de laboratório. Diversos HPA diferem em potencial cancerígeno, mas mesmos aqueles que não são considerados cancerígenos podem ser considerados como agentes sinérgicos nos organismos vivos, aumentando o potencial cancerígeno de outros HPA (JIRA, 2004; SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD, 2002).

Uma pesquisa realizada no Brasil por Camargo e Toledo (2002) teve por objetivo detectar e quantificar esses compostos em produtos lácteos, cereais, produtos de panificação,

leguminosas, tubérculos, açúcares, produtos cárneos defumados e pizzas. Os produtos defumados, bacon, frango e lingüiça apresentaram o maior percentual de HPA, com quantidades variando entre 0,08 e 5,47mg/kg, sendo que no frango foram encontrados todos os HPA carcinogênicos analisados: Benzo(a)antraceno, (B(a)A; Benzo(b)fluoranteno B(b)F; Benzo(k)fluoranteno B(k)F; Benzo(e)pireno B(a)P e Dibenzo(ah)antraceno D(ah)A).

O limite máximo de HPA permitido em produtos à base de carne tratados com fumaça é 0,03µg/kg, esse limite foi fixado pela União Européia (HARTMAN, 2000; SIMKO, 2002). No entanto, Wenzl, et al. (2006), avaliaram a atual legislação da União Européia para os níveis máximos permitidos de HPA e observaram discrepâncias entre as legislações para cada país e tipo de alimento e como conclusão, a necessidade da padronização entre eles.

Desde os meados do século passado existe a preocupação de se reduzir as quantidades dessas substâncias. Dessa forma, a fumaça que tem sido produzida comercialmente para utilização na indústria de carnes e peixes, têm sido reduzidos vestígios de HPA, os aromas da fumaça são extraídos, filtrados do material resinoso que contem maior quantidade de HPA. Alguns desses aromas são obtidos por destilação de líquidos piroligênicos, estando disponíveis em soluções aquosas ou na forma seca em diferentes suportes, como por exemplo, sal ou fermento (STOLYHWO, 2005).

Uma das alternativas para a redução dos níveis de HPA é a utilização da fumaça líquida que possui especificamente substâncias como 3-4 benzopireno e 1,2,5,6 benzoantraceno em menores proporções quando comparada ao processo de defumação tradicional (GUILLE'N; SOPELANA; PARTEARROYO, 2000; GONULALANA, 2003).

2.6 Análise histopatológica

2.6.1 Cólon intestinal

Os modelos experimentais em animais continuam sendo uma potente arma no estudo da patogenia das doenças e na pesquisa de novas técnicas terapêuticas para combatê-las ou mesmo preveni-las. Os modelos empregados na investigação da doença inflamatória intestinal, doença não-espontânea ou espontânea em animais, podem ser reproduzidos, de perto, em animais como o rato. Pelo baixo custo operacional no manuseio destes animais em laboratório e pela similaridade entre os aspectos histológicos da sua mucosa colônica e da humana (PINTO JUNIOR et al., 1999)

A análise histopatológica vem sendo bastante utilizada junto a estes modelos experimentais. O exame microscópico dos tecidos tem por finalidade observar alguns aspectos de sua patogenicidade e estruturas organizacionais afetadas pelas manifestações da doença. Sendo necessário o conhecimento da estrutura padrão normal do tecido analisado (ARTAL, 2004).

O intestino grosso apresenta uma estrutura que está de acordo com suas principais funções, que são absorção de água, e a produção de muco para lubrificação da superfície mucótica. A estrutura da parede é constituída por quatro camadas principais, chamadas mucosa, submucosa, muscular e serosa (CORMACK, 2003).

A espessa mucosa do intestino grosso possui criptas profundas, mas não existem vilosidades. Seu epitélio superficial é formado por células cilíndricas absorptivas com bordas estriadas, juntamente com muitas células caliciformes, que aumentam em quantidade, do cólon ascendente até o reto. As criptas são longas, retilíneas e relativamente numerosas, contendo grandes números de células caliciformes, juntamente com células cilíndricas absorptivas, poucas células enteroendócrinas e ocasionais células-fonte basais. A lâmina própria e a submucosa assemelham-se àquelas do intestino delgado, no entanto, não existem glândulas. A camada muscular externa possui diferença característica, no ceco e no cólon, o músculo longitudinal está disposto principalmente como três faixas longitudinais, chamada de ténias do cólon (CORMACK, 2003). A análise histopatológica possibilita observar mediante a avaliação subjetiva qualitativa a presença de infiltrado inflamatório agudo ou crônico na lâmina própria; das alterações na arquitetura das criptas cólonicas; da presença de hiperplasias foliculares linfóides e de linfóides na luz dos vasos da submucosa e da presença de eosinófilos na luz intestinal (PINTO JUNIOR et al., 1999).

A congestão vascular e a infiltração celular na lâmina própria são consideradas geralmente sinais histológicos de inflamação (COMARCK, 2003). No entanto, análise qualitativa do infiltrado celular na lâmina própria não está totalmente elucidada, visto que, normalmente, há um grau de celularidade preexistente neste compartimento da mucosa, que pode conduzir a uma avaliação incorreta. Para evitar essa avaliação altamente sugestiva tem sido proposto contagem dos diversos elementos (KOMOROWSKI, 1990; KELI et al., 1997).

Outra alteração que vem sendo bastante analisada em modelos experimentais é a presença de focos de criptas aberrantes. Os focos de criptas aberrantes (FCAs) foram inicialmente descritos por Bird, em 1987, sendo considerados precursores de lesões que desenvolvem câncer de cólon retal (CCR). Embora ainda permaneçam desconhecidos muitos dos eventos que ocorrem entre o aumento da população celular das criptas e o aparecimento do câncer é

bem estabelecido que em indivíduos humanos com alto risco para câncer a ploriperação celular da mucosa colônica está aumentada. Frequentemente, se manifesta pela projeção do compartimento proliferativo das criptas em direção à luz do tubo gastrointestinal (OLIVEIRA, 2001).

Essas lesões se caracterizam morfológicamente por apresentarem criptas com aberturas terminais alteradas, espessamento epitelial com células proeminentes e tamanho maior que as criptas adjacentes (SIU et al., 1997). São facilmente visíveis em análise microscópica do cólon, corado com azul de metileno (BIRD, 1995). Os focos de criptas aberrantes (FCAs) são considerados bons marcadores biológicos do processo de transformação neoplásica, por serem as modificações mais iniciais do desenvolvimento neoplásico em nível morfológico (BIRD et al., 1987).

Quando as criptas aberrantes isoladas ou em focos são encontradas na mucosa de ratos submetidos a agentes carcinógenos, também mostram alterações relacionadas ao processo de transformação neoplásica, podendo ser utilizadas como biomarcadores, indicadores da provável progressão do câncer. Constatou-se a existência de linhagens mais resistentes e mais susceptíveis ao desenvolvimento de câncer de cólon quando induzidos por carcinógenos como dimetilhidrazina (ROSEMBERG; LIU, 1995; MCLELLAN et al., 1991). A partir destas pesquisas, é possível avaliar o papel de diversos fatores (nutrientes ingeridos na dieta, drogas, inflamação crônica e ulceração da mucosa) na predisposição ou proteção ao desenvolvimento do câncer de cólon nas várias fases da carcinogênese colorretal (BARROS, 2006).

2.6.2 Fígado

O fígado é considerado a maior glândula composta do corpo e o principal órgão metabólico e centro de desintoxicação massiva para degradação de álcool e drogas. As principais funções incluem o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos; armazenamento e ativação das vitaminas e minerais; formação e excreção de bile; conversão da amônia em uréia; metabolismo de esteróides e filtração e câmara de irrigação (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010).

Este órgão é constituído pelos hepatócitos que se agrupam em placas que se anastomosam entre si, formando unidades morfológicamente chamadas lóbulos hepáticos. Em algumas regiões, os lóbulos ficam afastados por vasos e tecido conjuntivo, a estas regiões convencionou-se chamar de espaço porta. Cada espaço porta apresenta no seu interior uma vênula e uma

arteríola, que são ramos da veia porta e da artéria hepática, um ducto biliar e vasos linfáticos, envoltos por uma bainha de tecido conjuntivo (COMARCK, 2003).

No lóbulo, as células hepáticas ou hepatócitos dispõem-se em placas orientadas radialmente. Cada placa é constituída por células dispostas em uma só camada, de maneira análoga aos tijolos de um muro. Essas placas são perfuradas e, frequentemente, anastomosam-se, resultando um labirinto complexo. O espaço que fica entre as placas de células hepáticas é ocupado por capilares sinusóides hepáticos que são capilares que possuem paredes revestidas por dois tipos celulares: as células endoteliais típicas dos capilares sanguíneos e macrófagos que neste órgão, são denominados de células de Kupffer onde ocorre a fagocitose de hemácias (JUNQUEIRA, 2003).

Com relação ao metabolismo dos lipídeos, dentre as principais funções o fígado é responsável pela facilitação da digestão e absorção de lipídios, pela produção de bile que contém colesterol e sais biliares sintetizados de novo no órgão e pela captação de colesterol das lipoproteínas. Possui um sistema enzimático ativo para a síntese e oxidação de ácidos graxos, síntese de triglicerídeos e fosfolipídio. Realiza a conversão de ácido graxo em corpos cetônicos e faz a síntese e metabolização das lipoproteínas plasmáticas (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010).

Em condições normais a gordura é absorvida pela mucosa intestinal e passa à circulação sob a forma de quilomícrons. Estes contêm triglicérides, que são depositados no tecido adiposo, servindo de reserva para as funções metabólicas quando há privação de alimentos. O tecido adiposo libera a gordura na forma de ácidos graxos livres (AGL) mediante o estímulo da adrenalina, corticosteróides e outros hormônios. Os AGL têm dois destinos após a entrada nos hepatócitos: são oxidados pelas mitocôndrias para gerar energia (ATP) ou são convertidos novamente em triglicérides, acoplados às lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e transportados ao tecido adiposo (REIS et al., 2001; MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010).

Quando ocorre o aumento do fluxo e/ou síntese endógena de ácidos graxos livres pode levar ao acúmulo de triglicerídeos nos hepatócitos se a β -oxidação mitocondrial e a produção e secreção de VLDL forem insuficientes para lidar com a carga de AGL. A presença do conteúdo de triglicerídeos nos hepatócitos devido ao desequilíbrio entre a síntese e a degradação de triglicerídeo é definida como esteatose hepática ou fígado gorduroso (REIS, 2001).

A esteatose hepática ou fígado gorduroso, característica da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), surge da disponibilidade e mobilização de ácidos graxos livres (AGL), da síntese hepática aumentada de ácidos graxos (AGL), da esterificação de AGL em

triglicérides e do decréscimo do transporte de triglicérides para fora do fígado. Haveria, portanto, um desvio dos mecanismos de lipólise em favor da lipogênese.

Em 1999 o grupo de Cleveland (Matteoni et al., 1999) adotou um sistema para categorizar as lesões da DHGNA. Eles dividiram as lesões em quatro grupos:

Grupo 1: esteatose hepática apenas.

Grupo 2: esteatose hepática + inflamação.

Grupo 3: esteatose hepática + balonização.

Grupo 4: grupo 3 + hialinos de Mallory ou fibrose.

A esteatose hepática é caracterizada pela presença de grande vacúolo de gordura que empurra o núcleo para a periferia. Em muitos casos, geralmente os mais graves, há também esteatose microvacuolar, formados por numerosos pequenos vacúolos citoplasmáticos que provocam indentações no núcleo centralmente localizado. Ambos os tipos de esteatose são facilmente reconhecidos à microscopia óptica, não sendo necessário o uso de colorações especiais. A esteatose macrovacuolar: ela é classificada como discreta quando compromete de 0 a 33% dos hepatócitos; moderada quando compromete 33 a 66% e acentuada quando compromete mais de 66% dos hepatócitos (BRUNT, 2001; BRUNT, 2004).

A inflamação pode se apresentar tipicamente discreta e lobular. Os infiltrados lobulares se caracterizam por um misto de mononucleares e polimorfonucleares neutrófilos (BRUNT, 2001).

A balonização, alteração morfológica que denota dano celular, é consequência da disfunção de microtúbulos e da diminuição de secreção de proteínas, acompanhada de retenção de fluido dentro do hepatócito (BURT et al., 1998). O citoplasma dos hepatócitos baloniformes adquire aspecto finamente granular e eles se tornam arredondados, edemaciados. As células baloniformes podem conter hialinos de Mallory. Eles são inclusões homogêneas, eosinofílicas e perinucleares, podendo ser vistos em colorações de rotina.

3 METODOLOGIA

A execução das atividades do experimento foi realizada no Laboratório Bromatológica/CCS-UFPB, Laboratório de Cromatografia Instrumental-UFPE e no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição/CCS-UFPB.

3.1 Questões éticas

Todos os animais receberam cuidados humanísticos conforme os Princípios Éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) N°0408/09 da Universidade Federal da Paraíba.

3.2 Mortadelas

As mortadelas utilizadas na elaboração das dietas foram do tipo Bologna defumada e Bologna tradicional adquirida em comércio local. As amostras adquiridas de um mesmo lote foram divididas em porções menores e armazenadas sob refrigeração por um período de validade recomendado. As mortadelas utilizadas apresentam a seguinte composição:

3.2.1 Composição das mortadelas (Informação do rótulo do produto)

Bologna Tradicional	Bologna Defumada
Carne mecanicamente separada de frango; gordura suína; carne bovina; carne de peru; fécula de mandioca; proteína isolada de soja; sal; pimenta preta; regulador de acidez: lactato de sódio, citrato de sódio; estabillazonil, polisfosfato de sódio e pirofosfato sódico; glutamato monossódico; aroma natural de pimenta preta, branca e vermelha; antioxidante; nitrito e nitrato de sódio e corante carmim	Carne mecanicamente separada de frango; gordura suína; carne bovina; carne de peru; fécula de mandioca; proteína isolada de soja; carboidrato maltodextrina; sal; pimenta preta; regulador de acidez: lactato de sódio, citrato de sódio; estabillazonil, polisfosfato de sódio e pirofosfato sódico; glutamato monossódico; aroma de fumaça natural; aroma natural de pimenta preta, branca e vermelha; antioxidante; nitrito de sódio e corante carmim

3.3 Análise da composição centesimal das mortadelas

As análises de composição centesimal foram realizadas no Laboratório de Bromatologia – UFPB. Para a determinação da composição centesimal, as mortadelas foram trituradas em picador/moedor de carne (Skymssen pcp221) e homogeneizadas pela técnica de quarteamento (CHECCHI, 2003).

3.3.1 Determinação da umidade

Determinado pelo o método gravimétrico (012/IV) que se fundamenta na secagem direta da amostra em estufa, a 105° C, até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

3.3.2 Determinação de resíduo mineral fixo (RMF)

O resíduo mineral fixo foi obtido pelo método gravimétrico (018/IV) após carbonização em manta aquecedora e incineração da matéria orgânica em forno mufla a 550° C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

3.3.3 Determinação de gordura

Para determinação do percentual de gordura utilizou-se o método de Folch, Less e Stanley (1957), no qual a extração de lipídeos ligados às proteínas e carboidratos é feita pela utilização de solventes polares.

3.3.4 Determinação de proteínas

O teor de protídeos totais foi determinado pelo método de Kjeldahl (037/IV), utilizando-se o fator de conversão 6,25 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

3.3.5 Determinação de carboidratos (amido)

A determinação carboidratos amido seguiu a metodologia (043/IV) adotada pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

3.3.6 Valor energético total

Calculado pela soma e multiplicação dos macronutrientes pela quantidade de energia fornecida por cada um ($\% \text{ proteína} \times 4 \text{ kcal} + \% \text{ de lipídeos} \times 9 \text{ kcal} + \% \text{ de carboidratos} \times 4 \text{ kcal}$), e o resultado expresso em kcal/100g (BRASIL, 2000).

3.4 Identificação e quantificação de ácidos graxos das mortadelas

A extração da gordura foi realizada usando o método Folch, Less e Stanley (1973), e a identificação e quantificação dos ácidos graxos, a partir dos ésteres metílicos dos ácidos graxos obtidos conforme o método descrito por Hartman e Lago (1973).

A análise cromatográfica foi realizada no Laboratório de Cromatografia Instrumental/UFPE. A cromatografia gasosa foi realizada em cromatógrafo CG Master, equipado com: injetor split, razão 1:25; coluna capilar MYT-WAY (Carboway Crosford Polietilenoglicol), 30m de comprimento x 0,28mm de diâmetro interno contendo 0,1 μ m de polietilenoglicol; detecção por ionização em chama. As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna programada, temperatura inicial 180°C/2,5min, elevando-se para 220°C numa escala de 10°C/min, permanecendo nesta temperatura por 11,5 minutos; gás de arraste: H₂ numa vazão de 2ml/min.

3.5 Rotulagem

Os teores encontrados para umidade, proteína, lipídeos e carboidratos nas amostras de mortadelas utilizadas foram comparados com as rotulagens, considerando-se valores calculados a partir da composição dos nutrientes, e avaliados de acordo com a RDC n° 360 de 23 de dezembro de 2003.

3.6 Dietas Experimentais

3.6.1 Preparação das mortadelas para inclusão na dieta experimental

As mortadelas foram trituradas em picador/moedor de carne, homogeneizadas, pesadas e adicionadas junto aos outros componentes da dieta.

3.6.2 Composição das dietas experimentais

Foram utilizados três tipos de dietas. O grupo Controle com dieta padrão Caseína (GC), o grupo Tradicional (GT) com dieta contendo mortadela tipo Bologna tradicional + caseína, e o grupo defumado (GD) contendo mortadela tipo Bologna defumada + caseína.

Os três tipos de dietas foram normocalórica, normoprotéica, normolipídica e normoglicídica. Todas as dietas foram elaboradas com o mesmo percentual de proteínas (12%) e os teores de sais minerais, vitaminas, fibras, carboidratos e lipídios foram equilibrados segundo recomendações de Reeves et al. (1993) do American Institute of Nutrition (IAN). As dietas para cada grupo de animais foram preparadas semanalmente no Laboratório de Nutrição Experimental e oferecidas diariamente em quantidade suficiente para garantir o consumo *ad libitum*.

Tabela 1: Composição da dieta à base de Caseína a 12% (Dieta controle)

CONSTITUINTES (g/100g)	QTD(g)	PTN	HC	LIP	SM	FIBRA	VIT	BIT.C.	D-L-ME
Caseína (12%)	13,00	12,00	-	-	-	-	-	-	-
Óleo vegetal (soja)	4,00	-	-	4,00	-	-	-	-	-
Celulose	5,00	-	-	-	-	5,00	-	-	-
Mistura Vitamínica	1,00	-	-	-	-	-	1,00	-	-
Mistura Minerais	3,50	-	-	-	3,50	-	-	-	-
D-L metionina	0,18	-	-	-	-	-	-	-	0,18
Bitartarato de colina (0,25)	0,25	-	-	-	-	-	-	0,25	-
Amido	73,07	-	62,11	-	-	-	-	-	-
Total	100,00	12,00	62,11	4,00	3,50	5,00	1,00	0,25	0,18
VET (Kcal)	332,44 kcal								

PTN: proteína, HC: carboidrato, LIP: lipídeos, SM:minerais, D-L met: D-L metionina, BIT.C.: bitartarato de colina.

Tabela 2: Composição da dieta com mortadela tradicional (Dieta Tradicional)

CONSTITUINTES (g/100g)	QTD(g)	PTN	HC	LIP	SM	FIBRA	VIT	BIT.C.	D-L-ME
Mortadela Tradicional	15,30	2,34	0,38	4,00	-	-	-	-	-
Caseína	10,40	9,66	-	-	-	-	-	-	-
Óleo vegetal (soja)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Celulose	5,00	-	-	-	-	5,00	-	-	-
Mistura Vitamínica	1,00	-	-	-	-	-	1,00	-	-
Mistura Minerais	3,50	-	-	-	3,50	-	-	-	-
D-L metionina	0,18	-	-	-	-	-	-	0,18	-
Bitartarato de colina (0,25)	0,25	-	-	-	-	-	-	-	0,25
Amido	64,37	-	54,7	-	-	-	-	-	-
Total	100	12,00	55,09	4,00	3,50	5,00	1,00	0,18	0,25
VET (Kcal)	322,84								

PTN: proteína, HC: carboidrato, LIP: lipídeos, SM:minerais, D-L met: D-L metionina, BIT.C.: bitartarato de colina.

Tabela 3: Composição da dieta com mortadela defumada (Dieta Defumada)

CONSTITUINTES (g/100g)	QTD(g)	PTN	HC	LIP	SM	FIBRA	VIT	BIT.C.	D-L-ME
Mortadela defumada	15,50	2,45	0,48	4,0	-	-	-	-	-
Caseína	10,30	9,55	-	-	-	-	-	-	-
Óleo vegetal (soja)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Celulose	5,00	-	-	-	-	5,00			
Mistura Vitamínica	1,00	-	-	-	-	-	1,00	-	-
Mistura Minerais	3,50	-	-	-	3,5	-	-	-	-
D-L metionina	1,80	-	-	-	-	-	-	-	1,80
Bitartarato de colina (0,25)	0,25	-	-	-	-	-	-	0,25	-
Amido	62,65	-	53,25	-	-	-	-	-	-
Total	100,00	12,00	53,73	4,00	3,50	5,00	1,00	0,25	1,80
VET (Kcal)	318,93								

PTN: proteína, HC: carboidrato, LIP: lipídeos, SM:minerais, D-L met: D-L metionina, BIT.C.: bitartarato de colina.

3.7 Delineamento experimental

3.7.1 Animais

Foram utilizados 30 ratos machos (*Rattus norvergicus*, var. albinos) da linhagem *Wistar*, com 90 dias de idade, com maturidade sexual desenvolvida (XIONG, 2008) obtidos do Biotério do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental CCS/UFPB. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, sob condições padrões de iluminação (ciclo claro/escuro de 12/12 horas), a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ (MERUSSE; LAPICHIK, 1996).

3.7.2 Ensaio biológico

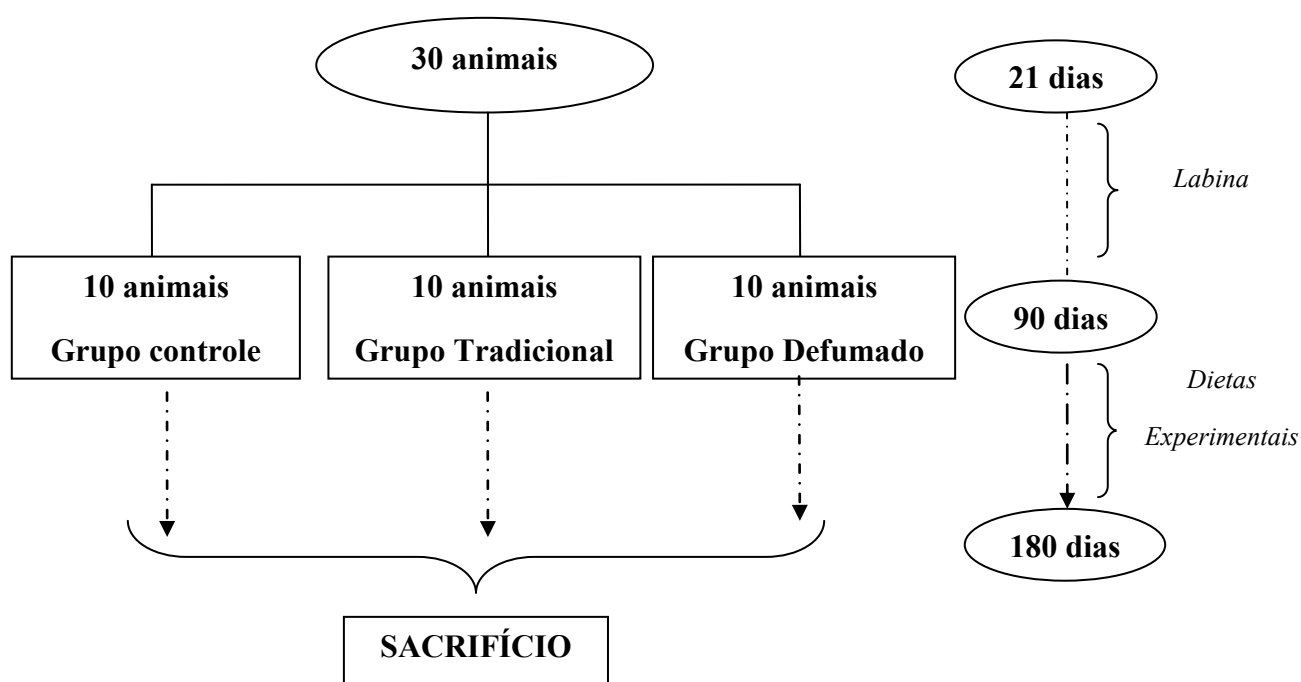


Figura 2: Esquema do ensaio biológico do experimento

Todos os animais após o período de desmame (21º de vida) receberam dieta comercial Labina produzida pela Purina Brasil até completaram 90 dias de vida. Ao final deste período,

os animais foram pesados e divididos em três grupos aleatoriamente para início da oferta das dietas experimentais.

Cada grupo composto por 10 animais receberam as seguintes dietas: um grupo recebeu dieta padrão com caseína (grupo controle), o segundo consumiu dieta elaborada com mortadela Bologna tradicional como fonte de proteínas, que foi completada pela caseína (grupo Tradicional) e o terceiro grupo consumiu a dieta elaborada com mortadela Bologna defumada também como fonte de proteína e completada com caseína, (grupo Defumado), as dietas experimentais foram ofertadas diariamente por um período de 90 dias. O experimento com os animais teve duração total de 180 dias.

3.8 Avaliação do ganho de peso (g)

O peso corporal dos animais dos três grupos foi obtido semanalmente, utilizando-se balança eletrônica digital Marte, (modelo S-4000) com capacidade para 3 kg e sensibilidade de 0,1g no horário de 7 às 9 horas da manhã.

3.9 Consumo das dietas

Diariamente foram ofertados em média 30g (em pellets) das dietas específicas para cada grupo e semanalmente quantificada as sobras, rejeito limpo (RL) e rejeito sujo (RS) no horário de 7 as 9 horas da manhã. A determinação do consumo alimentar foi obtida pela seguinte equação:

$$C = RO - (RL + RS)$$

Onde:

C= Consumo de ração semanal (g)

RO= Dieta oferecida (g)

RL= Rejeito limpo (g)

RS= Rejeito sujo (g)

3.10 Coeficiente de eficácia alimentar (CEA)

Semanalmente, os animais foram pesados e quantificados a ingestão alimentar pelo cálculo do CEA para cada grupo utilizando a seguinte equação:

$$CEA = \frac{(PF - PI)}{TA}$$

Onde:

PF: peso corporal semanal do animal (g)

PI: peso corporal do animal no início do experimento (g)

TA: quantidade total de alimento ingerido semanalmente (g)

3.11 Sacrifícios dos animais

Ao final dos 180 dias do experimento e após jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com quetamina (25mg/kg) associado com xilazina (10mg/kg) via intra-muscular, em seguida realizou-se abertura da cavidade abdominal para coleta de amostras do sangue por técnica de punção cardíaca e o sacrifício dos animais, de acordo com os procedimentos e princípios éticos descritos na Resolução Nº 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária - CFMV (2002).

3.12 Peso dos órgãos.

Após a coleta do sangue, foi realizada excisão, limpeza e pesagem em balança analítica (AND-HR-120) dos órgãos: fígado e baço.

3.13 Dosagens dos constituintes sanguíneos

Após a coleta, o sangue foi centrifugado durante 10 minutos, a 3.000 rpm, para separação do soro. As análises dos constituintes químicos foram realizadas em laboratório Central de Análises Clínicas – CEACLIN-Sousa/PB.

O conteúdo plasmático de colesterol total (CT), HDL-colesterol, VLDL-colesterol e triglicerídeos (TG), foram determinados pelo método enzimático e quantificados, utilizando o kit enzimático Testlab Quick Lab ® seguindo as recomendações de Allain et al., (1974). A determinação de LDL-colesterol, foi realizada de acordo com o método descrito por Friedwald et al., (1972):

$$LDL(mg / dL) = CT - (HDL + \frac{TG}{5})$$

3.14 Gordura visceral

Após o sacrifício dos animais, foi retirado todo o seu trato gastrointestinal, em seguida foi coletada e pesada a gordura visceral em balança analítica (modelo AND-HR-120 com variação 0,001g).

3.15 Avaliações histopatológicas

Após o sacrifício foi realizado excisão do fígado e intestino. No intestino realizou-se ressecção do segmento colônico situado entre 4 a 6 cm do orifício anal. Os órgãos retirados foram fixados em solução de formol tamponado (10%) por um período de 48 horas. Após a lavagem das peças foram desidratadas em banho sucessivos de etanol à 70%, 80%, 90% e 100% (60 min cada), diafanizadas em três banhos de xilol (60 min cada) e na sequência, transferidas para recipientes contendo parafina fundida, permanecendo por uma hora em cada recipiente. Ao final deste procedimento, o material foi incluído em parafina com auxílio das barras de leuckhart para confecção do bloco e deixando a temperatura ambiente para solidificação da parafina.

Na realização dos cortes histológicos foi utilizado um micrótomo rotativo manual modelo “LEICA RM 2125 RT”, ajustado para 5 μ de espessura. Os cortes foram distendidos em banho-maria a 40° C, colhidos em lâminas histológicas e colocadas em estufa a 37°C por 24 horas, para secagem e melhor adesão dos cortes às lâminas.

A coloração dos cortes histológicos foi feita aplicando a técnica de Hematoxilina/Eosina de Harris (BEÇAK e PAULETE, 1976). Todo o processamento histológico dos diversos órgãos foi realizado no Laboratório de Processamento de Material Biológico do curso Técnico em Bodiagnóstico da Escola Técnica de Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

As principais alterações histopatológicas avaliadas no cólon intestinal foram presença de células inflamatórias na luz intestinal, infiltrado inflamatório agudo ou crônico na mucosa (pela presença de linfócitos, eosinófilos e neutrófilos na lâmina própria), alterações na arquitetura das criptas colônicas, presença de hiperplasia folicular linfóide na mucosa e submucosa, presença de fibrose. Em relação ao fígado foi observada a presença ou não de vacúolos gordurosos, presença de infiltrado, congestão sinusoidal e fibrose. Na análise foi considerado valores subjetivos baseados no grau de intensidade: parâmetro ausente (-); parâmetro presente, com distribuição focal e intensidade leve (+); parâmetro presente, com distribuição difusa e

intensidade moderada (++) ; parâmetro presente, de distribuição difusa e intensidade acentuada (+++ ou mais).

A análise para evidênciação de possíveis alterações histopatológicas nos órgãos estudados foi realizado por um patologista com emissão de laudo e fotodocumentação. As lâminas foram enviadas ao patologista de forma aleatória, sem o conhecimento dos tratamentos para evitar indução na avaliação.

3.16 Tratamentos estatísticos

Para as análises dos constituintes nutricionais das mortadelas foi utilizado o Teste t de Student (expresso em média $\pm$ erro padrão da média). Para a análise dos dados do ensaio biológico foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA) nas comparações entre os diversos parâmetros avaliados dos diferentes grupos. Constatada existência de diferença nos resultados, foi usado teste de Tukey, para identificar quais os grupos diferem entre si. Na impossibilidade de utilizar a teste paramétrico (Análise de Variância - ANOVA), foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis e o teste de Wilcoxon para identificação das diferenças. Os testes estatísticos foram realizados com o Programa Estatístico-R (CORE R DEVELOPMENT TEAM, 2006).

REFERÊNCIAS

- ABIA, **Relatório Anual 2008. Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos**. Disponível em: < <http://www.abia.org.br/ecopublal11.asp> > Acesso: Dezembro de 2009.
- ALAEJOS, M. S.; GONZALEZ, V.; AFONSO, A. M. Exposure to heterocyclic aromatic amines from the consumption of cooked red meat and its effect on human cancer risk: A review. **Food Additives and Contaminants**, v. 25, n. 1, p. 2–24, 2008.
- ABREU, E. S. **Restaurante “por quilo”: vale quanto pesa? Uma avaliação do padrão alimentar em restaurantes de Cerqueira César**, São Paulo, SP [tese de doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2000.
- AGGETT, P. J. Passclaim, process for the assessment of scientific support for claims on foods. **European Journal of Nutrition**, v. 4, n. 1, p.1-30, 2005.
- ALLAIN , C. C.; POON, L. S; CHAN, C. S. G.; RICHOMOND, W.; FU, P. C . Enzymatic determination of serum total cholesterol, **Clinical chemistry**, v. 20, n. 4, p. 470- 475, 2006.
- ARTAL, E. M. Diagnóstico histopatológico de las micosis. **Revista Iberoamericana Mico-logia**, v.21, n.1, p. 1-9, 2004.
- BARROS, L. T. C. **Efeito do uso do Orlistat na proliferação celular da mucosa colônica e na formação de focos de criptas aberrantes induzidos por Dimetilhidrazina em ratos**. Ribeirão Preto, SP, [tese de mestrado], Pós-graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirao Preto, São Paulo, 2006.
- BARTH, J. A. C.; STEIDLE, D.; KUNTZ, D.; GOCHT, T.; MOUVET, C.; VON TUEMPLING, W. Deposition, persistence and turnover of pollutants: First results from the EU project AquaTerra for selected river basins and aquifers. **Science of the Total Environment**, v. 376, n. 1, p. 40–50, 2007.
- BEÇAK, W. S.; PAULET, I. **Técnicas de citologia e histologia**. Livro Técnicos e Científicos. 2 ed, Rio de Janeiro, p. 305, 1976.
- BINGHAM, S. A.; HUGHES, R.; CROSS, A. J. Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. **Journal of Nutrition**, v.132, n.11, p. 3522–3525, 2002.
- BIRD, R. P. Observation and quantification of aberrant crypts in murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. **Cancer Lett**, v. 37, n. 2, p. 147–151, 1987.
- BIRD, R. P. Role of aberrant crypts foci in understanding the pathogenic of colon cancer. **Cancer Lett**, v. 93, n. 1, p. 55-71, 1995.
- BOYLE, P.; BOFFETTA, P.; AUTIER, P. Diet, nutrition and cancer: Public, media and scientific confusion. **Annals of Oncology**, v. 19, n. 10, p. 1665–1667, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998. **Regulamento Técnico: Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso pa-**

ra a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos, Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em: 10 maio. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 04 de 31 de março de 2000. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha**. Disponível: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 03 ago. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira : promovendo a alimentação saudável** - Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. – Brasília: Ministério da Saúde (Série A. Normas e Manuais Técnicos), p. 236, 2005.

BRESSAN, M. C.; ODA, S.H.I.; FARIA, P.B.; RODRIGUES, G.H.; MIGUEL, G. Z.; VIEIRA, J. O.; MARTINS, F. M. **Produtos cárneos curados e defumados: mais sabor e maior valor agregado**. UFLA/MG, 1999. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_76.pdf> Acesso em: 17 de setembro 2009.

BRUNT, E.M. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. **Seminars Liver Disease**, v. 21, n. 1, p. 3-16, 2001.

BRUNT, E. M. Nonalcoholic steatohepatitis. **Seminars Liver Disease**, v. 24, n. 3, p. 3-20, 2004.

BURT, A. D.; MUTTON, A.; DAY, C.P.; Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. **Seminars Diagnostic Pathology**, v. 15, n. 4, p. 246-58, 1998.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Contamination in Different Commodity Groups. Brazilian. **Journal of Food Technologic**, v. 5, n. 1, p. 19-26, 2002.

CAMPBELL, M. K. **Biochemistry**. Mount Holyoko College. Saunders College Publishing. Harcourt Brace College Publishers. 2 ed, 1995.

COMARCK, D. H. **Fundamentos da Histologia**. 2ª ed. São Paulo, Guanabara Koogan, 2001.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO BRASIL. **Resolução CFMV nº 714, de 20 de junho de 2002**. Disponível em: < http://www.crmv-pr.org.br/?p=legislacao/legislacao_detalhes&id=83 > Acesso: Outubro de 2009.

CHECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2ª ed. Campinas: Unicamp, 2003.

CHUNG-YIH, K.; HONG-SHEN, L.; JEANG-HUNG, L. Emission of polycyclic aromatic hydrocarbons and lead during Chinese mid autumn festival. **Science of the Total Environment**, v. 366, n. 1, p. 233–241, 2006.

CLINTON, S.K.; IMREY, P. B.; MANGIAN, H.J.; NANDKUMAR, S.; VISEK, W. J. The Combined Effects of Dietary Fat, Protein, and Energy Intake on Azoxymethane-Induced Intestinal and Renal Carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 52, n. 4, p. 857-865, 1992.

CORE R DEVELOPMENT TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, 2006. Disponível em: < <http://www.r-project.org> > . Acesso em: 20 de maio 2009

CROSS, A. J.; LEITZMANN, M. F.; GAIL, M. H.; HOLLENBECK, A. R.; SCHATZKIN, A.; e SINHA, R. A prospective study of red and processed meat intake in relation to cancer risk. **PLoS Medicine**, v. 4, n. 12, p. 1973–1984, 2007.

DATAMARK. **Market data meat products**, 2001. Disponível em: < <http://www.datamark.com.br> > Acesso: Dezembro de 2010.

DJINOVIC, A. J.; POPOVIC, B. A.; JIRA, W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different types of smoked meat products from Serbia. **Meat Science**, v. 80, n. 2, p. 449–456, 2008.

DRABIK-MARKIEWICZA, B. G.; DEJAEGHERC, B.; MEYA, E.; IMPENSA, S.; KOWALSKAB, T.; PAELINCKA, H.; VANDER HEYDENC. Evaluation of the influence of proline, hydroxyproline or pyrrolidine in the presence of sodium nitrite on N-nitrosamine formation when heating cured meat. **Analytica Chimica Acta**, v. 657, n. 2, p.123-130, 2010.

DIETARY REFERENCE INTAKES (DRIs) for Energy, Carbohydrate. Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine of the National Academies (2002/2005).] Disponível em: < www.nap.edu > Acesso: 15 de Fevereiro de 2011.

DUNCAN, C.; LI, H.; DYKHUIZEN, R.; FRAZER, R.; JOHNSTON, P.; MACKNIGHT, G. Protection against oral and gastrointestinal diseases: Importance of dietary nitrate intake, oral nitrate reduction and enterosalivary nitrate circulation. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 118, n. 4, p. 939–948, 1997.

EUROSTAT. **Statistics in focus. Causes of death in the EU**. Disponível em <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-NK-06-010/EN/KS-NK-06-010-EN.PDF>2006. Acesso em: 5 de maio de 2009.

FISMES, J.; SCHWARTZ, C.; PERRIN-GANIER, C.; MOREL, J. L.; CHARISSOU, A. M.; JOURDAIN, M. J. Risk of contamination for edible vegetables growing on soils polluted by polycyclic aromatic hydrocarbons. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 24, n. 4-5, p. 827–836, 2004.

FLOOD, A.; VEILE, E. M.; SINHA, R.; CHATERJEE, N.; LACEY, J. V.; JR E SCHAIRER, C. Meat, fat and their subtypes as risk factors for colorectal cancer in a prospective cohort of women. **American Journal of Epidemiology**, v. 158, p. 59–68, 2003.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p.497-509, 1957.

- FRIEDWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma use of preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 499-502, 1972.
- GIOVANNUCCI, E.; RIMM, E. B.; STAMPFER, M. J.; COLDITZ, G. A.; ASCHERIO, A.; WILLET, W.C. Intake of fat, meat and fiber in relation to risk of colon cancer in men. **Cancer Research**, v. 54, n. 9, p. 2390–2397, 1994.
- GONULALANA, Z.; KOSEB, A.; YETIMC, H. Effects of liquid smoke on quality characteristics of Turkish standard smoked beef tongue, **Meat Science**, v. 66, n. 1, p.165–170, 2003.
- GRACIA, A. Consumers' valuation of nutritional information: A choice experiment study. **Food Quality and Preference**, v. 20, n. 7, p. 463-471, 2009.
- GRUNDY, S. M. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long-chain fatty acids. **American Journal Clinical Nutrition**. v. 60, n. 6, p. 986-990, 1994.
- GUILLE'N, M. D.; SOPELANA, P.; PARTEARROYO, M. A. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Liquid Smoke Flavorings Obtained from Different Types of Wood. Effect of Storage in Polyethylene Flasks on Their Concentrations. **Journal Agricultur Food Chemist**, v. 48, n. 10, p. 5083-5087, 2000.
- HATTULA, T.; ELFVING, K.; MROUEH, U.M.; LUOMA, T. Use of Liquid Smoke Flavouring as an Alternative to Traditional Flue Gas Smoking of Rainbow Trout Fillets (*Oncorhynchus mykiss*). **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**. v. 34, n. 8, p. 521-525, 2001.
- HARDTMAN, L.; LAGO, R.C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratorial Praticies**, v. 22, n. 6, p. 475-476, 1973.
- HEIDEMANN, C.; SCHULZE, M. B.; FRANCO, O. H.; VAN DAM, R. M.; MANTZOROS, C. S.; HU, F. B. Dietary patterns and risk of mortality from cardiovascular disease, cancer and all causes in a prospective cohort of women. **American Heart Association - Circulation**, v. 118, n. 3, p. 230–237, 2008. Disponível em: < circ.ahajournals.org > Acesso: Outubro de 2010.
- HONIKEL, K.O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, v. 78, n. 1, p. 68-76, 2008.
- HOWSAM, M.; JONES, K. C.; INESON, P. PAHs associated with the leaves of three deciduous tree species. I – Concentrations and profiles. **Environmental Pollution**, v. 108, n. 3, p. 413–424, 2000.
- HSU, J.; ARCOT, J.; LEE, A. N. Nitrate and nitrite quantification from cured meat and vegetables and their estimated dietary intake in Australians. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 334–339, 2009.
- HU, F. B.; STAMPFER, M. J.; MANSON, J. E.; ASCHERIO, A.; COLDITZ, G. A.; SPEIZER, F. E.; ET AL. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk o coronary heart disease in women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 6, p. 1001–100, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 - Aquisição alimentar domiciliar *per capita* Brasil e Grandes Regiões.** Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ, **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos - 4ª Edição, 1ª Edição Digital,** 2005.

JACKSON, K. G.; MAITIN, V.; LEAKE, D. S.; YAQOOB, P.; WILLIAMS, C. M. Saturated fat-induced changes in Sf 60-400 partin.cle composition reduces uptake of LDL by HepG2 cells. **Journal of Lipid Research**, v. 47, n. 2, p. 393-403, 2006.

JANOSZKA, B.; WARZECHA, L.; BLASZCZYK, U.; BODZEK, D. Organic compounds formed in thermally treated high-protein food Part I: Polycyclic aromatic hydrocarbons. **Acta Chromatographica**, v. 14, p. 115–128, 2004.

JIRA, W. A. GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 1, p.208–212, 2004.

JAMES, M. J.; GIBSON, R. A.; CLELAND, L. G. Efeitos dos ácidos graxos araquidônico e eicosapentanóico sobre a ativação/inibição da produção de mediadores inflamatórios. Modificado de: Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. **American Journal Clinical Nutrition**. 2000.

JONES, P. J. H.; LICHTENSTEIN, A. H.; SCHAEFER, E. J.; NAMCHUK, G. L. Effect of dietary fat selection on plasma cholesterol synthesis in older, moderately hypercholesterolemic humans. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 14, n. 4, p. 542-548, 1994.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**, , 10 ed, Guanabara Koogan, 2003.

KELEMEN, L. E.; KUSHI, L. H.; JACOBS, D. R.; JR.; CERHAN, J. R. Associations of dietary protein with disease and mortality in a prospective study of postmenopausal women. **American Journal of Epidemiology**, v. 161, v. 3, p. 239–249, 2005.

KELI, E.; BOUCHOUCHA, M.; DEVROEDE, G.; CARNOT, F.; OHRANT, T.; CUGNENC, P. H. Diversion-related experimental colitis rats. **Diseases of the Colon Rectum**, v. 40, n. 2, p. 222-8, 1997.

KHIL, J.; GALLAHER, D. D.; Beef tallow increases apoptosis and decreases aberrant crypt foci formation relative to soybean oil in rat colon. **Nutrition and Cancer International Journal**, v. 50, n. 1, p. 55-62, 2004.

KOMOROWSKI, R.A. Histologic spectrum of diversion colitis. **The American Journal Surgical Pathologic**, v. 14, n. 6, p. 548-54, 1990.

KONTOGIANNI, M. D.; PANAGIOTAKOS, D. B.; PITSAVOS, C.; CHRYSOHOOU, C.; STEFANADIS, C. Relationship between meat intake and the development of acute

coronary syndromes: The CARDIO2000 case-control study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 2, p. 171–177, 2008.

KUSHI, L. H.; BYERS, T.; DOYLE, C.; BANDERA, E. V.; MCCULLOUGH, M.; GANS-
LER, TED.; ANDREWS, K. S.; THUN, M.J. American Cancer Society Guidelines
on Nutrition and Physical Activity for Cancer Prevention: Reducing the Risk of Cancer With
Healthy Food Choices and Physical Activity. **A Cancer Journal for Clinicians**, v. 56, n. 5, p.
254-281, 2006.

LAPRE, J. A.; DEVRIES, H. T.; KOEMAN, J. H.; VANDERMEER, R. The antiproliferative
effect of dietary calcium on colonic epithelium is mediated by luminal surfactants and depen-
dent on the type of dietary fat. **Cancer Research**, v. 53, n. 2, p. 784-789, 1993.

LARSSON, S. C.; RAFTER, J.; HOLMBERG, L.; BERGKVIST, L.; WOLK, A. Red meat
consumption and risk of cancers of the proximal colon, distal colon and rectum: The Swedish
Mammography Cohort. **International Journal of Cancer**, v.113, n. 5, p. 829–834, 2005.

LARSSON, S. C.; WOLK, A. Meat consumption and risk of colorectal cancer: A meta-
analysis of prospective studies. **International Journal of Cancer**, v. 119, n. 1, p. 2657–2664,
2006.

LAUENSTEIN, G. G.; KIMBROUGH, K. L. Chemical contamination of the Hudson–
Raritan Estuary as a result of the attack on the World Trade Center: Analysis of polycyclic
aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in mussels and sediment. **Marine Pol-
lution Bulletin**, v. 54, n. 3, p. 284–294, 2007.

LEE, J. Y.; CARR, T. P.; Dietary fatty acids regulate acyl-CoA: cholesterol acyltransferase
and cytosolic cholesteryl ester hydrolase in hamsters. **Journal of the Nutrition**. v. 134, n. 12,
p. 3239-44, 2004.

LI, D.; SIRIAMORNpun, S.; WAHLQVIST, M. L.; MANN, N. J.; SINCLAIR, A. J. Lean
meat and heart health. **Asia Paci off Journal of Clinical Nutrition**, v. 14, n. 2,
p. 113–119, 2005.

LICHTENSTEIN, A. H.; AUSMAN, L. M.; CARRASCO, W.; JENNER, J. L.; ORDOUAS,
J. M.; SCHAEFER, E. I. Hiperholesterolemic effect of dietary cholestol in diet enrich in
polyunsaturad and saturat fat. Dietary cholesterol, fat saturation, and plasma lipids. **Arterios-
clerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 14, p. 168-175, 1994.

LICHTENSTEIN, A. H.; LAWRENCE, J.; BRANDS, M.; CARNETHON, M.; STEPHEN,
D.; HAROLD, A.; BARRY F.; PENNY, K.E.; WILLIAM, S.; HARRIS; HOWARD, B.;
KARANJA, N.; LEFEVRE, M.; LAWRENCE, R.; SACKS, F.; VAN HORN, L.; WINS-
TON, M. Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006. A Scientific Statement From
the American Heart Association Nutrition Committee. **Circulation**. n.114, v.2, p.82-96, 2006.

LORGERIL, M.; RENAUD, S.; MAMELLE, N.; SALEN P, MARTIN JL, MONJAUD I.
Mediterranean alpha-linolenic acid rich diet in secondary prevention of coronary heart dis-
ease. **The Lancet**, v. 343, n. 8911, p.1454-1459, 1994.

LOTTEMBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabólica**, v. 53, n. 5, p. 595-607, 2009.

LOUHERANTA, A. M.; PORKKALA-SARATAHO, E. K.; NYSSONEN, M. K.; SALONEN, R. M.; SALONEN, J. T. Linoleic acid intake and susceptibility of very-low-density and low-density lipoproteins to oxidation in men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 63, n. 5, p. 698-703, 1996.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**, 11^a ed, Elsevier, 2010.

MASTERS C. n-3 Fatty acids and the peroxisome. **Mol Cell Biochem**, v. 165, n. 2, p. 83-93, 1996.

MATTEONI, C. A.; YOUNOSSI, Z. M.; GRAMLICH, T. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. **Gastroenterology**, v. 116, n. 6, p. 1413-1419, 1999.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição Campinas**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

McAFFE, A.J.; McSORLEY, E.M.; CUSKELLY, G.J.; MOSS, B.W.; WALLACE, J.M.W.; BONHAM, M.; FEARON, A.M. Red meat consumption: On overriw of the risks and benefits. **Meat Science**, n. 84, v. 1, p. 1-13, 2010.

McLELLAM, E. A.; MEDLINE, A.; BIRD, R. P. Dose response and proliferation characteristic of aberrant crypt foci: putative preneoplastic lesions in rat colon. **Carcinogenesis**, v.12, n.11, p.2023-2098, 1991.

McNAMARA, J. R.; WARNICK, G. R.; COOPER, G. R. A brief history of lipid and lipoprotein measurements and their contribution to clinical chemistry. **Clinica Chimica Acta**, v. 369, n. 2, p. 158–167, 2006.

MENSINK, R. P.; ZOCK, P. L.; KESTER, A. D.; KATAN, M. B. Effects of dietary fattyacids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: A meta-analysis of 60 controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 5, p.1146–1155, 2003.

MERUSSE, J.L.B.; LAPICHNIK, V.B.V. Instalações e equipamentos. In: DE LUCA, R.R.; ALEXANDRE, S.R.; MARQUES, T.; SOUZA, N.L.; MERUSSE, J.L.B.; NEVES, S.P. eds. **Manual para técnicos em bioterismo**. 2.ed. São Paulo: Winner Graph, p. 15-25, 1996.

McKNIGHT, G. M.; DUNCAN, C. W.; LEIFERT, C.; GOLDEN, M. H. Dietary nitrate in man: friend or foe? **Journal of Nutrition**, v. 81, n. 5, p. 349– 358, 1999.

MONTEIRO, C.A.; MACHADO, F.M.S.; CARMO, H.C.E.; CLARO, R.M. Renda, preço dos alimentos e participação de frutas e hortaliças na dieta. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 4, p. 557-562 2007.

NEUMANN, A.I.C.P.; MARTINS, I.S.; MARCOPITO, L.F.; ARAUJO, E.A.C. Padrões alimentares associados a fatores de risco para doenças cardiovasculares entre residentes de um município brasileiro. **Revista Panamericana Salud Publica**, v. 22, n. 5, p. 329–339, 2007.

NORAT, Meat, fish and colorectal cancer risk. The European prospective investigation into cancer and nutrition. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, n. 12, p. 906–916, 2005.

OLIVEIRA, E. C.; LEITE, M. S. B.; MIRANDA, J. A. R.; ANDRADE, A. L. S. S.; GARCIA, S. B.; LUQUETI, A. O.; MOREIRA, H. Chronic Trypanosoma Cruzi infection associated with low incidence of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon in rats. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 5, p. 737-740, 2001.

OSÓRIO, M. M.; RIBEIRO, M. A.; COSTA, E. C.; SILVA, S. P. O.; FERNANDE, C. E. Disponibilidade familiar de alimentos na Zona da Mata e Semi-Árido do Nordeste do Brasil. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 3, p. 319-329, 2009.

PARDI, M.C. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2^a Ed. Goiânia: UFG. 2001.

PEGG, R. B., & SHAHIDI, F. Nitrite curing of meat. The n-nitrosamine problem and nitrite alternatives. Trumbull, CT: **Food and Nutrition Press**, 2000.

PENCE, B.C.; BUTLER, M.J.; DUNN, D.M.; MILLER, M.F.; ZHAO, C. Non promoting effects of lean beef in the rat colon carcinogenesis model. **Carcinogenesis** v. 16, n. 5, p. 1157-1160, 1995.

PINTO JUNIOR, F. E. L.; OLIVEIRA, A. J. F.; MEDEIROS, K. F.; RAMOS, A. M. O. Repercussões histopatológicas da colostomia no coto colônico distal desfuncionalizado: estudo experimental em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. v. 26, n. 6, p. 327-333, 1999.

RABELO, L. M.; VIANA, R. M.; SCHIMITH, M. A.; PATIN, R. V.; VALVERDE, M. A.; DENADAI, R. C. Fatores de risco para doença aterosclerótica em estudantes de uma universidade privada em São Paulo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 72, n. 5, p. 569-74, 1999.

REIS, K. A. A.; ROQUETE, M. L. V.; PENNA, F. J. Esteatohepatite não-alcoólica na infância e adolescência: revisão. **Pediatria**, v. 23, n. 4, p. 329-39, 2000.

REAVEN, P. D.; GRASSE, B. J.; TRIBBLE, D. L. Effect of linoleate-enriched and oleate-enriched diets in combination with α -tocopherol on the susceptibility of LDL and LDL sub-fractions to oxidative modification in humans. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**. v. 14, n. 4, p. 557-566, 1994.

REEVERS, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C.; AIN-93. Purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Wriing on the Reformalation of the AIN-76 Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

ROÇA, R.O. Embutidos, Laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal. Disponível em <http://pucri.campus2.br/~thompson/TPOA-Carne/Roca113.pdf>, acesso em 10 de maio de 2009.

RIOUX, V.; LEMARCHAL, P.; LEGRAND, P. Myristic acid, unlike palmitic acid, is rapidly metabolized in cultured rat hepatocytes. **Journal Nutrition Biochemich**, v. 11, n. 4, p. 198-207, 2000.

ROSEMBERG, D. W.; LIU, Y. Induction of aberrant crypts in murine colon with varying sensitivity colon carcinogenesis. **Cancer Lett**, v. 92, n.2, p. 209-214, 1995.

SANTARELLI, R. L.; PIERRE, F.; CORPET, D. E. Processed Meat and Colorectal Cancer: A Review of Epidemiologic and Experimental Evidence. **Nutrition and Cancer**, v. 60, n. 2, p. 131-144, 2008.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD. Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final.Brussels: **European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General**, 2002.

SEBRANEK, J.G.; BACUS, J.N.; Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? **Meat Science**, v. 77, n. 1, p. 136-147, 2007.

SESINK, A. L. A.; TERMONT, D. S. M. L.; KLEIBEUKER, J. H.; VANDERMEER, R. Red meat and colon cancer: dietary haem, but not fat, has cytotoxic and hyperproliferative effects on rat colonic epithelium. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 10, p. 1909-1915, 2000.

SILVA, J.A. **Tópicos da Tecnologia de Alimentos**. Ed. Varela, 2000.

SIMKO, P. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. **Journal of Chromatography**, v. 770, n. 1-2, p. 3-18, 2002.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Rev Inter**, v. 20, n. 1, p. 77-90, 2004.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. **Journal Clinical Nutrition**, v. 11, n. 6, p. 63-73, 2002.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DA CARNE - SIC. **Defumando Carnes. Breve História dos enchidos e fumados**. Serviço de Informação da Carne. Disponível em: <http://www.sic.org.br/defumando.asp>. Acesso em 04 de maio de 2009.

SIU, I. M.; PRETLOW, T. G.; AMINI, S. B.; Identification of dysplasias in human colonic aberrant crypt foci. **American Journal Pathology**, v. 150, n. 5, p.1805-1813, 1997.

SMITH, W. L. Nutritionally essential fatty acids and biologically indispensable cyclooxygenases. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 33, n. 1, p. 27-37, 2007.

STOŁYHWO, A. A.; SIKORSKI, Z.E. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish – a critical review. **Food Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 303-311, 2005.

SUPREME SCIENTIFIC HEALTH COUNCIL, Ministry of Health and Welfare of Greece (1999). Dietary guidelines for adults in Greece. **Arch Hellenic Med** 16, 516–524.

TAO, S.; JIAO, X. C.; CHEN, S. H.; LIU, W. X.; COVENEY, R. M.; ZHU, L.Z. Accumulation and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rice (*Oryza sativa*). **Environmental Pollution**, v. 140, n. 3, p. 406–415, 2006.

TEIXEIRA, M.; VEIGA, V.; GLORIA, V.; SICHERI, R. Avaliação de um questionário simplificado de frequência de consumo alimentar como preditor de hipercolesterolemia em adolescentes. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, n. 1, p. 66-71, 2007.

VISCIANO, A. P.; M. PERUGINI A, F. CONTE B, M. AMORENA. Polycyclic aromatic hydrocarbons in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by traditional flue gas smoking and by liquid smoke flavourings. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 5, p. 1409–1413, 2008.

WHO/OMS. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation. **WHO Technical Report Series**, v. 916, 2002. Disponível em: <<http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO>> Acesso em: 13 de maio de 2009.

WEBB, E. C.; O'NEILL, H. A. The animal fat paradox and meat quality. **Meat Science** v. 80, n. 1, p. 28–36, 2008.

WENZL, T.; SIMON, R.; KLEINE, J.; ANKLAM, E. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. **Trends in Analytical Chemistry**, v.25, n.7, p. 716- 723, 2006.

YEHUDA, S.; RABINOVITZ, S.; CARASSO, R. L.; MOSTOFISKY, D.I.; The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. **Neurobiology of Aging**. v. 23, n. 5, p. 843-853, 2002.

YOUDIM K; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International journal of developmental neuroscience**. v. 18, n. 4, p. 383-399, 2000.

ANEXOS

CERTIDÃO DE COMITÊ DE ÉTICA

APÊNDICES

APÊNDICE A – ARTIGO I

EFFECTS OF ELABORATE FOOD INTAKE WITH SMOKED AND NON-SMOKED MORTADELLA THROUGH THE ANALYSIS OF THE PLASMA LIPID PROFILE OF RATS.

Artigo submetido ao periódico: *Revista Nutrición Hospitalaria*

ISSN: 0212-1611, Qualis B2 (Ano-base:2008), área: Medicina II, Fator de Impacto: 1,065

Effects of elaborate food intake with smoked and non-smoked mortadella through the analysis of the plasma lipid profile of rats (*Wistar*)

Mayara Queiroga BARBOSA¹, João Andrade e SILVA², Maria José de Carvalho COSTA³, Francisca Martins BION⁴, Ana Hermínia Andrade E SILVA⁵, Edvaldo Vasconcelos de CARVALHO FILHO⁶, Geofábio Sucupira CASIMIRO⁷, Camila Cândido de Lima MARTINS⁸

¹Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB – Brasil; ²Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB – Brasil; ³Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB – Brasil; ⁴Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE – Brasil; ⁵Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB – Brasil; ⁶Departamento de Nutrição, Universidade Federal Rio Grande do Norte – Santa Cruz/RN, Brasil; ⁷Unidade de Ciências da Vida, Universidade Federal de Campina Grande, Cajazeiras/PB – Brasil; ⁸Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB – Brasil

Abstract

This research evaluated the effect of elaborate food intake with smoked and non-smoked mortadellas through the analysis of the plasma lipid profile of rats. Thirty (30) rats (Wistar) were used and distributed into groups according to a specific diet: control group (CG), traditional group (TG) and smoked group (SG), all of which received a controlled diet for ninety (90) days. We utilized centesimal composition for identification of fatty acids present in the mortadellas, for the weekly intake and weight gain evaluations and for analysis of the animal's plasma lipid fractions. The traditional and smoked mortadella had respectively 15,27% ± 1,35 and 15,85% ± 1,89 of proteins, 26,19% ± 0,43 and 25,38% ± 0,272 of fat, 2,46% ± 0,049 and 3,075% ± 0,45 of carbohydrates, 2,65% ± 0,507 and 3,085% ± 0,45 of fixed mineral residue. The ratio of monounsaturated: polyunsaturated: saturated fatty acids detected was 2,7:1:2,2 in the traditional mortadella and 2,6: 1:2,1 in the smoked mortadella, which are not in compliance with the recommended values. The food intake showed significant differences between the groups ($p = 0,0003$) and between weeks ($p = 0,000$). The body weight of the animals and traditional smoked increased during the experiment in a more constant than the control group. The levels of plasma lipid fractions were greater in the animals from the smoked group. It can be concluded that the quality and ratio of monounsaturated: polyunsaturated: saturated fatty acids (M:P:S) present in both types of mortadella have contributed to these results and that, even though the fatty acid compositions are similar, the animals who consumed the smoked mortadella diet showed worse lipid profile, which may have come forth as a result of the greater quantity of food intake.

Keywords: Smoked mortadella, fatty acids, lipid fractions, rats.

EL CONSUMO DE DIETAS CON MORTADELA NO FUMA SIN FUMA EN EL PERFIL DE LÍPIDOS EN PLASMA DE RATA.

Resumen

Esta investigación evaluó el efecto de consumo de dietas con mortadela sin fumaba y fumaba en el plasma el perfil de lípidos nodico de las ratas se utilizaron 30 ratas fueron distribuidos en grupos de acuerdo a la dieta: el grupo control, el grupo tradicional y el grupo de ahumados que recibieron una dieta equilibrada durante 90 días. Se realizó la composición y la identificación de los ácidos grasos de las mortadela, la evaluación semanal de consumo, la ganancia de peso y análisis de de las fracciones lípidos plasmáticos de los animales. La mortadela tradicionales y fumaba contienen respectivamente, $15,27\% \pm 1,35$ y $15,85 \pm 1,89\%$ de proteínas, $26,19\% \pm 0,43$ y $25,38 \pm 0,272\%$ de materia grasa, $2,46 \pm 0,049\%$ y $3,075 \pm$ hidratos de carbono $0,45\%$, $2,65\% \pm 0,507$ y $3,085 \pm 0,45\%$ de ceniza. La proporción de ácidos grasos monoinsaturados: poliinsaturados: saturados (M:P:S) se detectó 2,7:1:2,2 en el mortadela tradicional y 2,6: 1:2,1 en el mortadela fumaba, no estar en conformidad con la dosis recomendada. El consumo de dietas presentan diferencias significativas entre los grupos ($p = 0,0003$) y entre las semanas ($p = 0,000$). El peso corporal de los animales los grupos fumabo y tradicionales aumentaron durante el experimento en una constante más que el grupo de control. Los niveles de las fracciones de lípidos en plasma fueron más altas en el grupo de fumado. Se concluye que la calidad y la proporción de ácidos grasos monoinsaturados: poliinsaturados: saturados (M: P: S) presente en ambos tipos de mortadela contribuido a estos resultados y que, a pesar de la composición de ácidos grasos son similares, los animales dieta consumida contiene salchicha ahumada mostraron un peor perfil lipídico, que pudo haber sido causado por la ingestión de alimentos.

Palabras clave: Mortadela fumaba, ácidos grasos, lípidos, ratas.

Correspondence: Mayara Queiroga Barbosa

Rua Landoaldo Falcão de Sousa, 90/102-C, 58051-117

Bancários, João Pessoa, PB, Brasil

E-mail: mayarinhabq@hotmail.com

Introduction

The processed meat products stand out due to its high intake by the population in general¹. Data from the Brazilian Association of Food Industries² show that among all the cooked/canned products, mortadella is the most consumed in Brazil and in 2006 this consumption reached 300 thousand tons. Since it is convenient for fast consumption and varied, the canned goods gain the preference of those who do not prioritize time for cooking more adequate meals and who, therefore, need a short cooking time for their food on a daily routine.

The canned meat products are already part of the occidental diet, in big cities but also in rural areas³. The Bologna type of mortadella is a mixed canned good as it can be made of beef and/or pork and/or sheep as well as mechanically separated meat up to limit of 20%, fats like lard in cubes and optionally edible giblets of bovine and/or swine and/or ovine and/or feathered animals⁴. It can also be smoked, showing excellent taste and high nutritional value and allow elevated levels of production⁵.

Although, when the consumption of these foods become frequent it can provoke health problems due to the ingestion of insufficient or excessive quantities of determined nutrients. This inadequate dietary pattern may determine the health state, especially with respect to degenerative chronic diseases like obesity, cardiovascular conditions, diabetes and cancer^{6,7}.

The excessive consumption of processed meat products has a direct correlation with hypercholesterolemia and may cause risk factors for cardiovascular diseases in a very significant form⁸ and colorectal cancer^{9,10}. The typically occidental dietary pattern was identified as a rich diet in red meat and meat products, poor in fruits and vegetables, followed by a lifestyle involving alcohol consumption, smoking and low levels of physical activity¹¹. Heidemann et al.¹², found that this type of diet is associated with a risk of mortality 22% higher by cardiovascular diseases compared to a more appropriate dietary pattern that is rich in fruits, greens,

vegetables, feathered animals and whole grains. Researches on cardiovascular disease highlight meat fat and several fatty acids that are involved with the genesis of this disease^{13,14,15}.

Despite these researches being helpful in the evaluation of multiple risk factors and in the analysis of dietary patterns, it is impossible to isolate only the effects of red meat. As consequence, it has been difficult for researchers to provide convincing results on the association mechanisms between red meat consumption and cardiovascular diseases. McAfee et al.¹⁶ recommend that the composition of fatty acids in the whole diet be considered in this type of investigation instead of evaluating solely the content of fat in the meat.

In the clinical area, the choice of experimental model in animals is an important tool in the study of the origins of diseases and in the research of new therapeutic techniques to fight them off or even prevent them. In addition, the non-spontaneous or spontaneous investigations in animals like rats can be reproduced closely due to its similar physiological aspects to humans, thus minimizing methodological biases¹⁷. In order to collaborate with more information on this important subject matter, this research followed the experimental model in animals and was put forward with the aim to evaluate and compare the effects of elaborate food intake with smoked and non-smoked mortadella through the analysis of the plasma lipid profile of rats.

MATERIALS AND METHODS

Mortadellas

The mortadellas used in the diet preparation were of type smoked Bologna and traditional Bologna acquired in the local markets. The acquired samples of the same lot were divided into smaller portions (200g) and stored in a freezer during the period of experiment.

Label Analysis

After the sample collection of traditional and smoked mortadellas, an assessment of the labeling adequation was done. It was verified that all obligatory declarations were up to the current technical regulations. Also, the information given on the product label complied with the current technical regulations for the Nutritional Food Labeling¹⁸.

The mortadellas' nutritional information were verified for calories value, protein value in grams, starch, total fat correspondent to the homemade measure or portion informed on the nutritional labels and were transformed to portions of 100g. Then, the values obtained from the analysis of centesimal composition were compared. The percentages obtained for humidity, proteins, lipids and carbohydrates were compared with the labels and evaluated according to the Mortadellas' Identity and Quality.

Centesimal Composition Analysis of the Mortadellas

In order to determine the centesimal composition, the mortadellas were grinded in a chopper/meat grinder (Skympsen pcp221) and homogenized by the quartering technique¹⁹. The determination of humidity (012/IV), fixed mineral residue (018/IV), total proteins (037/IV) and starch (043/IV) followed methods from the Adolfo Lutz Institute²⁰. The percentage of total lipids were quantified by the method of Folch, Less and Stanley²¹. The total energetic value was calculated by the addition and multiplication of macronutrients with the quantity of energy given for each one (% protein 4 kcal + % de lipids x 9 kcal + % de carbohydrates x 4 kcal) and the expressed result in kcal/100g⁴.

Identification and Quantification of the Fatty Acids

After the extraction of fat by the Folch, Less and Stanley²¹ method, the identification and quantification of fatty acids from the methylic esters in the fatty acids obtained were done in conformity to the method described by Hartman and Lago²².

The gas chromatography was done in chromatograph GC Master, equipped with: split injector, ratio 1:25, capillary column MYT-WAY (Carboway Crosford Polyethylene Glycol) 30m length x 0,28mm in internal diameter containing 0,1µm of polyethylene glycol; detection by ionization in flame. The chromatographic conditions were: programmed column's temperature, initial temperature 180°C/2,5min, rising to 220°C in a scale of 10°C/min, remaining at this temperature for 11,5 minutes; drag gas: H₂ with flow of 2ml/min.

Experimental Diet Composition

Three types of diets were used: standard casein diet for the control group (CG), diet containing the traditional Bologna type of mortadella with casein for the traditional group (TG) and diet containing smoked Bologna type of mortadella with casein for the smoked group (SG).

The three types of diet were normocaloric, normoproteic, normolipidic and noromoglycidic and were prepared with the same percentage of proteins (12%) and the percentages of minerals, vitamins, fibers, carbohydrates and lipids were balanced in accordance to the American Institute of Nutrition²³. The mortadellas were grinded in a chopper/meat grinder, homogenized, weighed and added to the other components of the diet. The diets for each group were prepared weekly in the Department of Nutrition's Experimental Nutrition Laboratory of the Federal University of Paraiba (UFPB). Their diet was offered on daily basis in sufficient

quantities as to guarantee the consumption *ad libitum*.

Animals

Thirty (30) male rats were used (*Rattus norvegicus*, var. albinos) from the *Wistar* lineage. They had 90 days of age with sexual maturity developed and were obtained from the Department of Nutrition's Vivarium from the Federal University of Pernambuco's (UFPE) Health Science Center. The experiment was run in the Experimental Nutrition Laboratory CCS/UFPB. The animals were kept in individual cages under standard light conditions (light/dark cycle of 12/12 hours), at $23\pm 2^{\circ}\text{C}^{24}$. This research was analyzed and approved by the Ethical Committee on Animal Research No. 0408/09 of the Federal University of Paraiba.

Biological Assay

After the weaning period (21st of life), all the animals received Labina's commercial food diet produced by Purina Brasil up until they completed ninety (90) days of life. At the end of this period, the animals were weighed and distributed into three random groups, starting with the control group. Once it reached ten (10) animals in the group, ten other randomly selected rats were allocated into the next group in a way that each group received ten animals.

The animals of each group received the following diets: standard casein diet (control group), elaborate diet containing traditional Bologna mortadella as source of proteins, which was complemented with casein (Traditional group) and the elaborate diet containing smoked Bologna mortadella and complemented with casein (Smoked group). The experimental diets were offered daily for a period of ninety days. The experiment with animals had a total duration time of a hundred and eighty (180) days.

Weight gain

The animals from all three groups had their body weight measured weekly using a Marte digital electronic balance (model S-4000) with the capacity for 3 kg and sensibility of 0,1g in the morning, from 07:00 to 09:00 a.m.

Diet consumption

An average of 30g of pellets were given (R0) of specific diet to each group on a daily basis. The leftovers were quantified, clean reject (CR) and dirty reject (DR), between 07:00 am and 09:00 am. The diet consumption was determined by the following equation:

$$C = RO - (RL + RS)$$

Animals' Sacrifice

At the end of the 180 days of experiment and after 12 hours of fasting, the animals were sacrificed in the following manner: they were anesthetized intramuscularly with ketamine (25mg/kg) associated with xylazine (10mg/kg). An opening of the abdominal cavity was made and the cardiac puncture technique was used for collecting the blood. The animals were then sacrificed in compliance to the Federal Veterinary Medicine Board's Resolution No. 714 on proceedings and ethical principles²⁵.

Quantification of Blood Constituents

After the blood collection, the sample was centrifuged for 10 minutes at 3.000 rpm for separation of the serum. The serum was conserved in the freezer until analysis could be run. The analysis of the chemical constituents was carried out in the Central Laboratory of Clinical Analysis (CEACLIN) in Sousa/PB.

The plasma contents of total cholesterol (TC), HDL-cholesterol, VLDL-cholesterol and triglycerides (TG) were determined by the enzymatic method and quantified using the enzymatic kit Testlab Quick Lab ® following the recommendations of Allain et al. (1974). The determination of LDL-cholesterol was done according to the method described by Friedwald et al.²⁶.

$$LDL(mg / dL) = TC - (HDL + \frac{TG}{5})$$

Statistical Analysis

The Student's t- test was used for the analysis of the nutritional constituents of mortadellas (expressed in mean $\pm$ standard error of mean). The Analysis of Variance (ANOVA) was used for the analysis of the biological assay in the comparisons between the various evaluated parameters for the different groups. Once we found differences in the results, we used the Tukey's test for identifying which groups differ from one another. The impossibility of using the parametric test (Analysis of Variance – ANOVA), led us to use the non-parametric Kruskal-Wallis test and the Wilcoxon Test with R- Statistical Software²⁷.

RESULTS

Physical-chemical composition

The comparison results between labeling values adequation and the legislation (Table 4), showed that all of the information considered as obligatory and complementary, according to the RDC No. 360, of the 23rd of November 2003¹⁸ were declared on the label of the evaluated products (Table II). The values informed on the label and those obtained in the food's chemical analysis were both in accordance to the Technical Regulation of Identity and Quality of Mortadella⁴. The humidity percentages found in the centesimal analysis were in accordance to those prescribed by Resolution No. 360, of the 23rd of November 2003¹⁸ however, since it is not obligatory to inform it on the label, it was not present on it. Despite all of the declared percentages on the label and those obtained by the food analysis be in accordance to the current legislation it was found that the protein and total fat values quantified were greater than the values mentioned on the label.

The percentage values for humidity and proteins (Table II) from the analyzed samples did not show any significant difference. As for the percentage of total lipids, there was a significant difference between the two samples analyzed. The traditional mortadella showed greater fat content whereas in the smoked mortadella were found greater percentage of carbohydrates and fixed mineral residue, which differs significantly to the tradition mortadella.

Fatty Acid Composition

The majority of the fatty acids detected in the samples of mortadellas (Table III) were the monounsaturates (MUFA), of which there is a higher proportion of oleic acid (C18:1n-9),

which varies from 42,4% in the traditional sample to 43,27% in the smoked sample. Then there were the saturated fatty acids (SFA), of which the palmitic acid (C16:0) was in greater quantity, varying from 25,43% to 22,03% in the samples of traditional and smoked mortadella, respectively; and the stearic acid with variation of 10,1% in the traditional mortadella to 11,47% in the smoked mortadella. The linolenic acid (C18:3 n-3) was not detected and the percentage of linoleic acid (C18:2 n-6) varied from 17,03% in the traditional mortadella to 17,80% in the smoked mortadella.

Food Intake and Weight Gain

The food intake (Figure I) was significantly different ($p < 0,05$) between the groups as well as the weeks in the same group. The control group showed alterations in the consumption between the weeks observed in the experiment, presenting itself as the group that has consumed less than the other groups. The smoked group showed a greater food consumption compared to the others throughout the entire experiment. Also, there was a decrease in food intake during weeks 2, 3, 5, 8, 11 and 12 for the smoked group however; the reduction in ingestion was not so visible for the control group. Only the traditional group maintained the food intake more constant, observed in the graphic by the bar arrangement.

The weight gain was verified by checking the difference in weight between the last and first week. The groups did not show a significant difference from one another. During the diet intake period, the weight gain (Figure 3) for all of the groups were very similar. In the first week the group fed with standard diet and the traditional group showed a higher body weight than the group that consumed the smoked mortadella. The statistical difference between the smoked and traditional groups was of $p = 0,014$ and between the smoked and control groups was of $p = 0,008$. The animal's body weight for the smoked and traditional group increased in

a more constant manner than the control group throughout the experiment. However, on the 11th week of experiment the animals from the smoked group lost weight and the traditional group showed a decrease in weight on the 8th and 11th week. During all the experiment the control group showed greater weight gain and weight loss oscillations.

Plasmatic levels of lipid fractions

The ANOVA was carried out in order to verify the existence of a significant difference between the groups with respect to the variables: total cholesterol, triglycerides, HDL- cholesterol, LDL- cholesterol and VLDL- cholesterol. However, the variables total cholesterol and LDL-cholesterol were further analyzed by the Kruskal-Wallis test since the presuppositions for the ANOVA application were not being met. The mean of the total cholesterol values between the groups were significantly different ($p < 0,05$). These differences were verified when the Wilcoxon test was applied. There was a significant difference between the control and traditional groups ($p = 0,0255$) and between the control and smoked group ($p = 0,0005$). The mean of total cholesterol was greater in the group where the animals were fed with smoked mortadella (SG) and the control group was the one that showed less total cholesterol concentration in the plasma.

As for the plasmatic levels of LDL-cholesterol, there was a significant difference between the groups ($p < 0,05$). The control group differed significantly from the traditional group ($p = 0,0101$) and from the smoked group ($p = 0,0000$). In a decreasing order, the LDL-cholesterol were more elevated in the group fed with smoked mortadella diet, then the group fed with traditional mortadella and lastly the control group, which showed the smallest levels.

The Tukey's test application pointed out statistical difference between the traditional and smoked groups for the variable HDL-cholesterol. The plasmatic level of this lipid fraction

was higher in the group in which the animals consumed the traditional diet and smaller in the group that consumed the smoked mortadella diet.

With respect to the variables VLDL and triglycerides no significant difference was detected between the groups. However, the plasmatic concentrations of VLDL and triglycerides were greater in the smoked group and smaller in the traditional group.

DISCUSSION

All of the analyzed components' percentage values (proteins, starch, lipids and humidity) were in accordance to the Normative Instruction (Instrução Normativa) No. 4, of 31st of March 2000, thereby respecting the limits set by law⁴. However, when comparing the results of the centesimal composition of the nutritional values on the label (adjusted to 100g of the product), it was verified that for the analyzed mortadellas, the percentage of proteins and lipids informed on the label were inferior to the ones found by the centesimal composition analysis. The methodologies and equipment used in this research were possibly not the same or the nutritional information on the labels was a standard model.

According to the Directory Board Resolution (Resolução de Diretoria Colegiada – RDC) No. 360 of the 23rd of December 2003, the Nutritional Labeling²¹ is all the description destined to inform the consumer about the food's nutritional properties. As for the product's nutritional composition, a maximum of 20% of the nutrient's values declared on the label are permitted.

The results obtained in this research for the humidity percentages match with results of the research conducted by Conceição et al.,²⁸ in which the humidity percentage of all the mortadella samples were also in accordance to the legislation, that is a maximum of 65%.⁴ The humidity percentage values of traditional mortadella obtained in this research come close the

values detected in elaborate mortadella, composed of lean bovine meat in the research conducted by Fernandez-López et al.²⁹

Fernandez-Lopez et al.²⁹, prepared and analyzed three mortadellas' formulations, differing only on the type of meat used. Two types of mortadella were prepared with different ostrich's thigh muscles and one type prepared with lean bovine meat. The percentage of total lipids of the bovine meat formulation (25,10%) were close to the detected values of traditional mortadella (26,19%) and to the smoked mortadellas (25,38%) used in this research. It was also greater than the mortadellas with ostrich's meat. The percentages of proteins in the traditional mortadella (15,27%) and of smoked mortadella (15,82%) were superior to the research mentioned above (13,02%). The percentage of ashes of the smoked mortadellas were more elevated (3,85%) than of the traditional mortadella (2,65%). The greater percentage mortadellas' ashes might have been due to the addition of salt and spices or to the deposition of other substances present in the liquid smoke.

The diet quantity offered was similar to all the groups but during the experiments the weekly food intake was higher in the smoked group (SG), followed by the traditional (TG) and control (CG). According to Madruga et al.,³⁰ the ration's palatability is a big influence factor in the food intake by the laboratory animals. However, sensorial characteristics such as odor, flavor and texture may have influenced to a greater food intake containing smoked mortadella by the animals of this group. According to Lapchik,³¹ the medium quantity of ration for rats is around 15 to 30g per day. All of the experimental groups ingested the diet in daily medium quantity as recommended, where the control group had $21,35g \pm 1,99$, the traditional group $23,19 \pm 1,59$ and the smoked group $23,60g \pm 1,45$.

The food consumption was directly proportional to the animal's weekly weight of each group. In the traditional (TG) and smoked (SG) groups, which presented with greater and more constant food intake, the mean of weekly weight was bigger and more constant as the

experiment progressed. In the control group (CG) there were more oscillations in the food consumption and in weight. However, the controlled diet and the experimental diet with the smoked and non-smoked mortadellas fomented weight gain in all of the experimental groups.

The two types of analyzed mortadellas showed high quantities of monounsaturated fatty acids (MUFA) and saturated fatty acids (SFA). The daily diet recommendations (Dietary Reference Intakes, 2005) are up to 20% of monounsaturated fatty acids, up to 10% polyunsaturated fat and less than 7% of saturated fat. The main sources of saturated fatty acids are the foods with animal origin (meat, meat products, milk and derivatives) and plant origin like coconut and cocoa. The saturated fatty acids considered to be the most hypercholesterolemic or atherogenic are the lauric acids (C12:0), myristic (C14:0) and palmitic (C16:0) and they are present in red meat and meat products (Webb e O'Neill, 2008; Rioux et al., 2000). The high plasmatic concentration of the saturated fatty acids – myristic and palmitic – detected in the mortadella samples is correlated to the increase of hypercholesterolemias and under metabolic conditions, the substitution of carbohydrates to these acids increases both the low density lipoprotein (LDL) as well as the high density lipoprotein (HDL). Meanwhile, the stearic acid has little effect³² and even though it has a saturated chain of carbon, this fatty acid does not increase the cholesterolemia.³³ According to Rioux et al.,³⁴ the myristic acid becomes the most important fatty acid in the elevation of cholesterolemia because it is rapidly incorporated into cellular triglycerides compared to other saturated fatty acids.

The results of this research were similar to the ones observed in the works of Stroher et al.,³⁵ where the quantities of myristic acid and palmitic acid detected were of 0,84 and 23,84%, respectively. From what was put forward, one must not analyze the influence of one or another saturated fatty acid singly. It is necessary to consider the total quantity of saturated fatty acids that may influence the elevation in total cholesterol and LDL-cholesterol.

With respect to the monounsaturated:polyunsaturated:saturated (M/P/S) ratio, for a di-

et containing 26,2% of fat in the traditional mortadella the recommended ratio is 2,1:1:0,7, respecting the Dietary Reference Intakes recommendations.¹⁵ However, the findings were 2,7:1:2,2. For the smoked mortadella with 25,8% of fat, it was found a ratio of 2,6:1:2,1. The types of mortadella analyzed did not show satisfactory M/P/S ratios. The quantity of saturated fatty acids is highly elevated when compared to the recommended ratio limits and the quantity of monounsaturated fatty acids was greater than the inferior limit recommended.

In the last decades, there have been changes in the proportion of consumed fat with the changes of new eating habits and the expansion of new industrialized products.³⁶ In the Paleolithic diet the ratio of polyunsaturated:saturated fat (P:S) consumed was of 1,41.³⁷ Oliver³⁸ verified, whilst analyzing various researches that highlighted the relationship between fatty acids and cardiovascular diseases, that the intervention group, which consumed one P:S ratio of 1:1, when compared to the control group, whose diet had a P:S proportion of 0,4:1, had less frequent coronary diseases. More recently, the Institute of Medicine only mentions that the saturated fat consumption must be minimized in the case of a nutritionally adequate diet.¹⁵

The experimental diets containing mortadellas were prepared using the quantity of fat recommended by The American Institute of Nutrition²³ which is of 40g of fat per kg of diet to adult animals in a normolipidic diet. In this same recommendation, it is also suggested that a relationship of at least 5:1 for $\omega 6/\omega 3$ and at least 2:1 for polyunsaturated: saturated be met. These proportions were not met in this work; the $\omega 3$ were not detected due to the quality of fat present in the mortadellas.

These results confirm what Simopoulos³⁹ verified, that the diets of the industrialized societies are being characterized by the increase in consumption of energy, of saturated fat, $\omega 6$ fatty acids, trans fatty acids and a decrease in $\omega 3$ fatty acids. According to Simopoulos,³⁶ the increase in consumption of $\omega 6$ fatty acids led to an increase in the relationship of $\omega 6$ with $\omega 3$ fatty acids of 1:1 to 15-20:1.

The traditional and smoked mortadellas showed high percentages of oleic acid (18:1 n-9) and of linoleic acid (18:2 n-6). In the research carried out by Stroher et al.,³⁵ similar results were observed, probably due to the presence of soy oil in the formulation of these canned products, as permitted by the manufacturers.

The comparison between the animals in the control group and the animals that received experimental diets showed that the diets containing both types of mortadellas increased the levels of total cholesterol and of LDL in a significantly manner. The group that consumed the diet containing the smoked mortadella showed a lipid profile with greater concentrations of total cholesterol, triglycerides, LDL-cholesterol and smaller concentrations of HDL-cholesterol when compared to the other groups.

The offered diets were normocaloric and normolipidic and were in accordance to the current recommendations for animals. In the experimental diets for the traditional and smoked group, the mortadella was the only source of fat, whose composition did not show recommended proportions of fatty acids – monounsaturated: polyunsaturated: saturated (M/P/S). The quantity of saturated fatty acids was higher than the polyunsaturated fatty acids, which may have resulted not only in the increase of total cholesterol and LDL-cholesterol but also in the decrease of HDL-cholesterol.

Another factor that may have contributed to such results is the inexistence of the ω 3 fatty acid and the elevated proportion of ω 6 fatty acids of the formulated diets with both types of mortadella. Lichtenstein et al.⁴⁰ and Louheranta et al.⁴¹ observed that when the ω 6 fatty acids are consumed in great quantities it provokes the decrease of HDL and increase the susceptibility of the LDL to oxidation. According to Martin et al.,⁴² the ω 6 and ω 3 fatty acids are precursors of the prostaglandins and leukotrienes' syntheses, which are involved in the processes of coagulation and inflammation. The ω 6 fatty acids participate on the inflammatory pathway and the ω 3 acids activate the anti-inflammatory pathway.

The composition of the analyzed mortadellas show typical characteristics of the industrialized meat products commonly present in the occidental diet with high concentration of saturated fat $\omega 6$ and absence of $\omega 3$. The standard diet offered to the animals of the control group followed all of the requirements by the American Institute of Nutrition²³ with respect to the quantity and quality of the fat used, which justifies the equilibrium obtained in the results of this group.

Vinueza et al.⁴³ found a significant increase in the levels of total cholesterol in rats fed with diets where saturated fat has been added. On the other hand, Xiong et al.⁴⁴ (2008) found that the animals who received basal diet (AIN-93G) with the addition of cured meat's fat showed a plasmatic reduction of total cholesterol. Such findings have not yet been verified with the use of basal diet (AIN-93G) added of lard and with the use of diet AIN-93 added of fresh fat.

Grundty and Denke⁴⁵ observed that the saturated fatty acids, especially the palmitic acid, influence the increase in serum cholesterol concentration and in the development of atherosclerosis. The main effect of the saturated fatty acids seems to be a decrease of the LDL's receptor activity. This alteration reduces the fractional clearance rate (FCR) for LDL and increases the conversion of the residual VLDL to LDL. The work carried out by Xiong et al.⁴⁴ showed that this metabolic behavior was also found when evaluating the effects of the different types of fat in the animal's lipid metabolism. Each group of animals were fed with the following diet: Group I: standard diet (AIN-93G); Group II: AIN-93G + 1% of cholesterol + 0,3% of bile salts + 10% of lard; Group III: AIN-93G + 5% of fresh fat; Group IV: AIN-93G + 10% of fresh fat; Group V: AIN-93G + 10% of fresh fat + 0,3% of nitrite; Group VI: AIN-93G + 5% of cured meat's fat; Group VII: AIN-93G + 10% of cured meat's fat and GROUP VIII: AIN-93G + 20% of cured meat's fat. When compared to the control group, the diet that had 10% of fresh fat fomented the decrease in serum levels of HDL-cholesterol.

According to Louheranta et al.⁴¹ when the polyunsaturated fatty acids of the series $\omega 6$ are present in great quantity or when there is not enough of the recommended $\omega 6$: $\omega 3$ ratio, there might occur a decrease in HDL-cholesterol and the increase of susceptibility to oxidation. Although the fatty acids' composition and the proportion of $\omega 6$ in mortadellas are similar, the group that consumed the diet containing smoked mortadella presented with smaller levels of HDL-cholesterol. The traditional group had these levels of HDL-cholesterol higher than the smoked group.

Although there is not any significant difference between the groups, the levels of triglycerides were more elevated in the group fed with the diet that contained smoked mortadella (SG) and less plasmatic concentration in the group that ate traditional mortadella (TG). The findings were contrary to the ones found by Xiong et al.⁴⁴: the triglycerides plasmatic levels decreased in all of the groups and the most significant reduction was seen in the group of animals that had lard as their diet. According to Grundy and Denke,⁴⁵ the plasmatic triglycerides levels are associated with the risk of atherosclerosis due to the alterations provoked in the composition of the lipoproteins, such as a decrease in the percentage of HDL-C, rise in chilo-microns, residual VLDL and even the emergence of small and dense LDL – more atherogenic. This argument goes with the results found in this research, in which the smoked group (SG) showed higher levels of triglycerides, lower concentration of HDL-cholesterol and increased VLDL compared to the other groups. The traditional group (TG) showed low plasmatic levels of triglycerides, higher HDL-cholesterol values and lower VLDL.

Considering the results obtained in this research, the prolonged consumption of diets containing traditional Bologna mortadella and smoked Bologna mortadella provoked alterations at biochemical levels of the lipid fractions even when the quantity of total fat was followed as recommended. It can be concluded that the quality and the ratio of the fatty acids M:P:S present in both types of mortadella contributed significantly to these results. Also, al-

though the composition of fatty acids is similar, the animals that consumed the diet containing smoked mortadella showed a greater lipid unbalance that may have happened due to the higher food consumption, which in turn, could be explained based on the better palatability of the smoked mortadella. Thus, it is suggested that further research be put forward, allowing a prolonged experimental period and maintaining greater control over the experimental diet intakes in order to observe the animals' plasmatic profile of lipid fractions.

REFERENCES

1. DATAMARK. Market data meat products, 2001. [update 2010 Dezembro 01; cited 2009 August 3] Available from: <http://www.datamark.com.br>.
2. ABIA, Relatório Anual 2008. Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos. [updated 2009 Dezembro 16; cited 2008 Jul 9]. Available from: <http://www.abia.org.br/ecopublall1.asp>.
3. Bertazzi RLC, Sichierib R, Pontesc NS, Monteiro CA. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). *Rev. Saúde Pública* 2005; 39: 531-540.
4. Brasil. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 04 de 31 de março de 2000. *Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha*. [updated 2009 August 03; cited 2008 Feb 9] Available from: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>.
5. Djinovic AJ, Popovic BA, Jira W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different types of smoked meat products from Serbia. *Meat Science* 2008; 80: 449–456.

6. Rabelo LM, Viana RM, Schimith MA, Patin RV, Valverde MA, Denadai RC. Fatores de risco para doença aterosclerótica em estudantes de uma universidade privada em São Paulo. *Arq Bras Cardiol* 1999; 72: 569-74.
7. Monteiro CA, Machado FMS, Carmo HCE, Claro RM. Renda, preço dos alimentos e participação de frutas e hortaliças na dieta. *Rev Saúde Públ* 2007; 41: 557-62.
8. Neumann AICP, Martins IS, Marcopito, LF, Araujo EAC. Padrões alimentares associados a fatores de risco para doenças cardiovasculares entre residentes de um município brasileiro. *Rev Panam Salud Publ* 2007; 22: 329–39.
9. Kushi L H, Byers T, Doyle C, Bandera E V, McCullough M, Gansler TED, Andrew S KS, Thun MJ. American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity for Cancer Prevention: Reducing the Risk of Cancer With Healthy Food Choices and Physical Activity. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 254-281.
10. Santarelli RL, Pierre F, Corpet DE. Processed Meat and Colorectal Cancer: A Review of Epidemiologic and Experimental Evidence. *Nutrition and Cancer* 2008; 60: 131–144.
11. Kontogianni MD, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C e Stefanadis C. Relationship between meat intake and the development of acute coronary syndromes: The CARDIO2000 case–control study. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 171–177.
12. Heidemann C, Schulze MB, Franco OH, Van Dam RM, Mantzoros CS, Hu FB. Dietary patterns and risk of mortality from cardiovascular disease, cancer and all causes in a prospective cohort of women. *Circulation* 2008; 118: 230–237.
13. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Ascherio A, Colditz GA., Speizer, FE. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk o coronary heart disease in women. *Am J Clin Nut* 1999; 70: 1001–100.

14. Pereira NR, Tarley CRT, Visentainer, JV, Matsushita M, Souza NE. Caracterização físico-química e perfil da composição em ácidos graxos de salsichas do tipo comum. *Acta Scientiarum* 1998; 20: 433-436.
15. Dietary Reference Intakes (DRIs) for Energy, Carbohydrate. Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine of the National Academies (2002/2005). [updated 2011 Mar 03; cited 2011 Mar 9] Available from: www.nap.edu
16. McAffe AJ, McSorley EM, Custkelly GJ, Moss BW, Wallace JMW, Bonham, Fearon AM. Red meat consumption: On overriw of the risks and benefits. *Meat Scienc* 2010; 84: 1-13.
17. Pinto Junior FEL, Oliveira AJF, Medeiros KF, Ramos AM. O. Repercussões histopatológicas da colostomia no coto colônico distal desfuncionalizado: estudo experimental em ratos. *Rev Col Bras Cir* 1999; 26: 327-333.
18. Brasil, Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. *Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados*. [updated 2010 Jul 03; cited 2009 Mar 9] Available from: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/360_03rdc.htm.
19. Checchi HM. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2ª ed. Campinas: Unicamp, 2003.
20. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. IV ed, 1ª ed digital, São Paulo, 2008.
21. Folch J, Less M, Stanley S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animail tissues. *J Biol Chem*. 1957; 226: 497-509.
22. Hartman L, Lago RCA. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. *Lab Pract* 1973; 22: 475-6.

23. Reeves SPG, Nielsen, FH, Fahey GC. Purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Wriing on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. *J Nutr* 1993; 123: 1939-1951.
24. Merusse JLB, Lapichik VBV. Manual para técnicos em bioterismo. 2.ed. São Paulo: Winner Graph, 15-25, 1996.
25. Conselho Federal de Medicina Veterinária do Brasil. Resolução CFMV nº 714, de 20 de junho de 2002. Disponível em: < [h](#) [updated 2009 Oct 03; cited 2009 Mar 9]
Available from: [ttp://www.crmv pr.org.br/?](http://www.crmv.pr.org.br/)
26. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 8: 499-502.
27. Core R Development Team. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, 2006. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 20 de maio 2007.
28. Conceição FVE, Gonçalves ECB. A. Qualidade físico-química de mortadelas e carnes moídas e conhecimento dos consumidores na conservação destes produtos. *Ciê n Tec- nol Aliment* 2009; 29: 283-290.
29. Fernandez-López J, Jimenez ES, Sayas-Barbera E, Sendra JÁ, Pérez-Alvarez. Quality characteristics of ostrich (*Struthio camelus*) burgers. *Meat Science*. 2006; 73: 295–303.
30. Madruga MS, Santos HB, Bion FM., Antune NL. M. Avaliação nutricional de uma dieta suplementada com multimistura: estudo em ratos. *Ciê n Tecnol Aliment*. 2004; 24: 129-133.
31. Lapchik, VBV. et al. Cuidados e Manejo de animais de laboratório. 1 ed. Sao Paulo. 2009.

32. Mahan, LK, Escott-Stump, S. Alimentos, Nutrição e Dietoterapia, 11^a ed, Elsevier, 2010.
33. Keys A, Anderson JT, Grande F. Serum cholesterol response to changes in the diet IV. Particular saturated fatty acids in the diet. *Metabolism* 1965; 14: 776-87.
34. Rioux V, Lemarchal P, Legrand P. Myristic acid, unlike palmitic acid, is rapidly metabolized in cultured rat hepatocytes. *J Nutr Biochem.* 2000; 11: 198-207.
35. Ströher GL, Montanher PF, Santos LP, Moraes DR, Gohara AK, Matsushita M, Visentainer JV, Souza NE. Quantificação de ácidos graxos em Mortadela, Lingüiça tipo calabresa e salsicha comum. XVI Encontro de Química da Região Sul, FURB, 13 [updated 2010 Jul 03; cited 2010 Mar 9] Available from:
http://www.furb.br/temp_sbqsul/_app/_FILE_RESUMO_CD/905.pdf
36. Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/ omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* 2002; 8: 365-379
37. Eaton SB, Konner M. Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N Engl J Med.* 1985; 312: 283–289.
38. Oliver MF. It is more important to increase the intake of unsaturated fats than to decrease to intake of saturated fats: evidence from clinical trials relating to eschemic heart disease. *Am J Clin Nutr.* 1999; 66: 980-986.
39. Simopoulos AP. Evolutionary aspects of omega-3 fatty acids in the food supply. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty* 1999; 60: 421-429.
40. Lichtenstein AH, Ausman LM, Carrasco W, Jenner JL, Ordovas JM, Schaefer EJ. Hypercholesterolemic effect of dietary cholesterol in diets enriched in polyunsaturated and saturated fat. *Arterioscler. Thromb* 1994;14: 168-75.

41. Louheranta, AM.; Porkkala-Sarataho, EK.; Nyyssonen, MK.; Salonen, RM.; Salonen, J. T. Linoleic acid intake and susceptibility of very-low-density and low-density lipoproteins to oxidation in men. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 698-703.
42. Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE, Visentainer JV. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutrição* 2009; 19: 761-770.
43. Vinueza JC, Faria JB, César TB. Hesperidina diminui o colesterol sanguíneo de ratos alimentados com gordura saturada. *Alimentos e Nutrição*. 2008; 19: 473-479.
44. Xiong AM, Zhang BY, Xianbiao LB, Changwei MA. Effects of dietary Chinese cured meat on lipid metabolism in rats. *Food Chem*. 2008; 107: 60-67.
45. Grundy SM, Denke MA. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *J Lipid Res* 1990; 31: 1149-1172.

ANEXOS

Table I
Composition of diets

Components (g/100g)	Control	Traditional	Smoked
Casein	13,00	15,30	15,50
Mortadella traditional	-	10,40	-
Mortadella smoked	-	-	10,30
Soy oil	4,00	-	-
Cellulose	5,00	5,00	5,00
Vitamin mix	1,00	1,00	1,00
Mineral mix	3,50	3,50	3,50
L-Methionine	0,18	0,18	1,80
Bitartarato de Colina	0,25	0,25	0,25
Corn starch	73,07	64,37	62,65
Energy density (kcal)	332,44	322,84	318,93

Table II

Adequation of values informs the labels of products with the legislation and values obtained

	Mortadella Traditional				Mortadella smoked			
	Legislation	Label (g)	Obtained (g)	Adequation	Legislation	Label (g)	Obtained (g)	Adequation
Energy density (kcal)		262,5	306,70 ± 1,453 ^a			302	304,06 ± 1,751 ^a	
Starch	≤ 5	5 g	2,458 ± 0,0492 ^b	Adequado	≤ 5	7,1 g	3,075 ± 0,392 ^a	Adequado
Proteins	≥ 12	13 g	15,271 ± 1,356 ^a	Adequado	≥ 12	12 g	15,825 ± 1,894 ^a	Adequado
Fat	≤ 35	21,25	26,198 ± 0,433 ^a	Adequado	≤ 35	24, 75	25,385 ± 0,272 ^b	Adequado
Humidity	≤ 65	NI	55,224 ± 4,071 ^a	Adequado	≤ 65	NI	53,653 ± 3,806 ^a	Adequado
Ash	-	-	2,650 ± 0,507 ^b	-	-	-	3,853 ± 0,451 ^a	-
Saturated fat	-	6,5 g	-	Adequado	-	8,5 g	-	Adequado
<i>Trans</i> fat	-	NI [‡]	-	Adequado	-	NI [‡]	-	Adequado
Cholesterol	-	24 mg	-	Adequado	-	21 mg	-	Adequado
Fiber	-	0,0	-	Adequado	-	0,0	-	Adequado
Sódium	-	1040 mg		Adequado	-	1090 mg	-	Adequado

* Means followed by equal letters and on the same line do not differ between one another by ffthe Tukey Test at 5% significance ($p < 0,05$). NI: not informed on the label

Table III
Fatty acid composition of the mortadellas.

Components		Mortadella traditional (g/100g)	Mortadella smoked (g/100g)
Saturated fatty acids (SFA)			
C13:0	N-tridecylic	0,00	0,20
C14:0	Myristic acid	1,4	0,93
C15:0	Pentadecyclic acid	0,1	0,00
C16:0	Palmitic acid	25,43	22,03
C17:0	Margaric acid	0,20	0,83
C18:0	Stearic acid	10,1	11,87
C20:0	Arachidic acid	0,37	0,73
TOTAL		37,60	36,59
Monounsaturated fatty acids (MUFA)			
C16:1(ω7)	Palmitoleic acid	3,23	2,30
C18:1 (ω9)	Oleic acid	42,4	43,27
TOTAL		45,63	45,57
Polyunsaturated fatty acids (PUFA)			
C18:2 (ω6)	Linoleic acid	17,03	17,80
C18:3 (ω3)	Linolenic acid	0,00	0,00
TOTAL		17,03	17,80
Relation M/P/S Found		2,7:1:2,2	2,6:1:2,1
Relation M/P/S Recommended*		2,1:1:0,7	2,1:1:0,7

**source: Institute of Medicine (IOM) - DRIs (2005). SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; ω6: omega 6; ω 3: omega 3 and ω9: omega 9.*

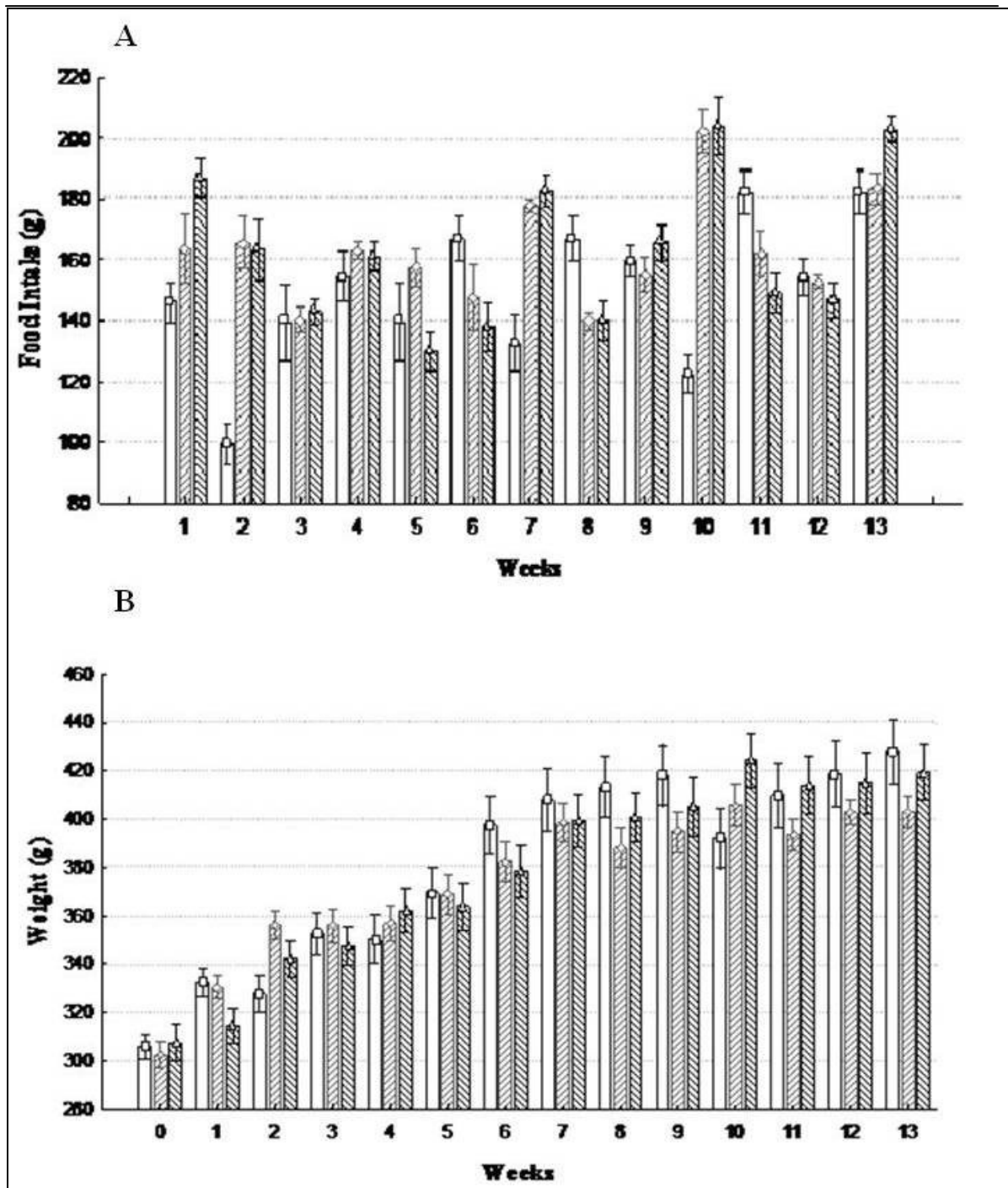


Fig. 1 – Food intake e body weight weekly. A - Animal's weekly food intake during the experiment. B - Body weight of animals throughout the experimental period. Data represent means and standard deviation. The differences were analyzed by the Tukey's Test ($p < 0,05$).

□ Dieta controle ▨ Dieta Tradicional ▩ Dieta Defumada

Table IV
Plasmatic Levels of Lipid Fractions

(mg/dl)	Group control	Group traditional	Group smoked
Cholesterol Total	53,6 ± 12,42 ^a	78,5 ± 37,27 ^{bc}	85,6 ± 16,59 ^{bc}
Triglicerides	35,8 ± 10,39 ^a	32,9 ± 4,58 ^a	38,7 ± 9,93 ^a
HDL-Cholesterol	32,1 ± 5,49	33,8 ± 6,77 ^a	27,1 ± 3,93 ^b
LDL- Cholesterol	14,3 ± 7,38 ^a	38,1 ± 31,20 ^b	50,8 ± 13,64 ^c
VLDL-Cholesterol	7,2 ± 2,08 ^a	6,6 ± 0,92 ^a	7,7 ± 1,82 ^a

* The values are expressed in mean ± standard error of mean, the different letters between the columns indicate difference (Tukey's test $p < 0,05$ and Wilcoxon test $p < 0,05$).

APÊNDICE B: RESULTADOS PARA ELABORAÇÃO ATIGO II

EFEITO DO CONSUMO DE DIETAS ELABORADAS COM MORTADELAS DEFUMADAS E NÃO DEFUMADAS SOB OS ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DO FÍGADO E CÓLON INTESTINAL DE RATOS.

(Em andamento)

EFEITO DO CONSUMO DE DIETAS ELABORADAS COM MORTADELAS TIPO BOLOGNA SOB OS ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DO FÍGADO E CÓLON INTESTINAL.

Mayara Queiroga BARBOSA¹, João Andrade e SILVA², Maria José de Carvalho COSTA³
Hugo Méndez Garcia⁴, Maria Vilma Matos Jurema MEDEIROS⁵, Claudenice Rodrigues do Nascimento⁶,

¹Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB - Brasil

² Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB - Brasil

³ Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB - Brasil

⁴ Laboratório de Bodiagnóstico , Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa/PB – Brasil

⁵ Departamento de Morfologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessa/PB – Brasil

⁶ Laboratório de Bodiagnóstico , Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa/PB - Brasil

⁷ Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB - Brasil

Tabela 1 Peso da carcaça, gordura peritoneal e peso do fígado dos animais.

	Grupo Controle	Grupo Tradicional	Grupo Defumado
Carcaça (g)	341,43 ± 36,22 ^a	327,42 ± 16,33 ^a	340,19 ± 30,27 ^a
Gordura Visceral (g)	6,24 ± 2,92 ^a	10,87 ± 5,28 ^b	8,73 ± 2,74 ^{ab}
Fígado (g)	12,12 ± 1,12 ^a	10,39 ± 1,23 ^b	11,17 ± 1,33 ^{ab}

Os valores estão expressos em média ± erro padrão da média, as letras diferentes entre as linhas indicam diferença. (ANOVA, seguida de Tukey, $p < 0,005$) entes os grupos analisados

Tabela 2 Frequência de grau de intensidade de esteatose hepática dos animais que consumiram as dietas experimentais.

Grau de Intensidade	Grupo Controle	Grupo Tradicional	Grupo Defumado
Esteatose Ausente (-)	50%	-	10%
Esteatose discreta (+)	10%	20%	20%
Esteatose Moderada (++)	40%	80%	60%
Esteatose Acentuada (+++)	-	-	10%

Tabela 3 Frequência de características histopatológicas do cólon intestinal dos animais que consumiram as dietas experimentais.

Grau de Intensidade	Grupo Controle	Grupo Tradicional	Grupo Defumado
Tecido Normal (-)	-	30%	-
Discreta presença de infiltrado mononuclear e eosinófilos (+)	10%	30%	80%
Moderada presença de infiltrado mononuclear e eosinófilos (++)	80%	40%	20%
Intenso infiltrado mononuclear e eosinófilos (+++)	10%	-	-

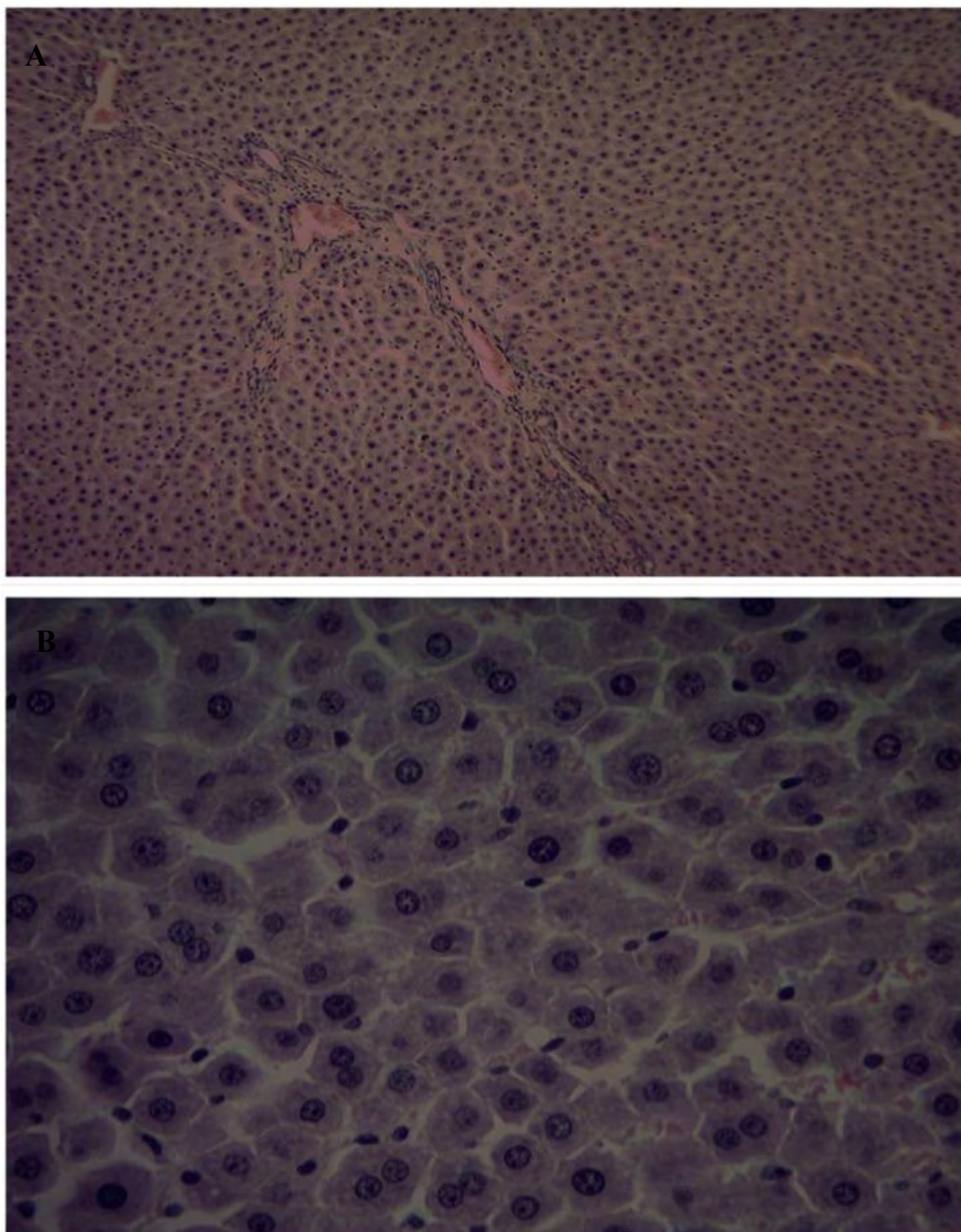


Figura 1- Fotomicrografia do fígado do grupo controle (HE). Parênquima hepático normal (HE). A - 100x e B - 400x.

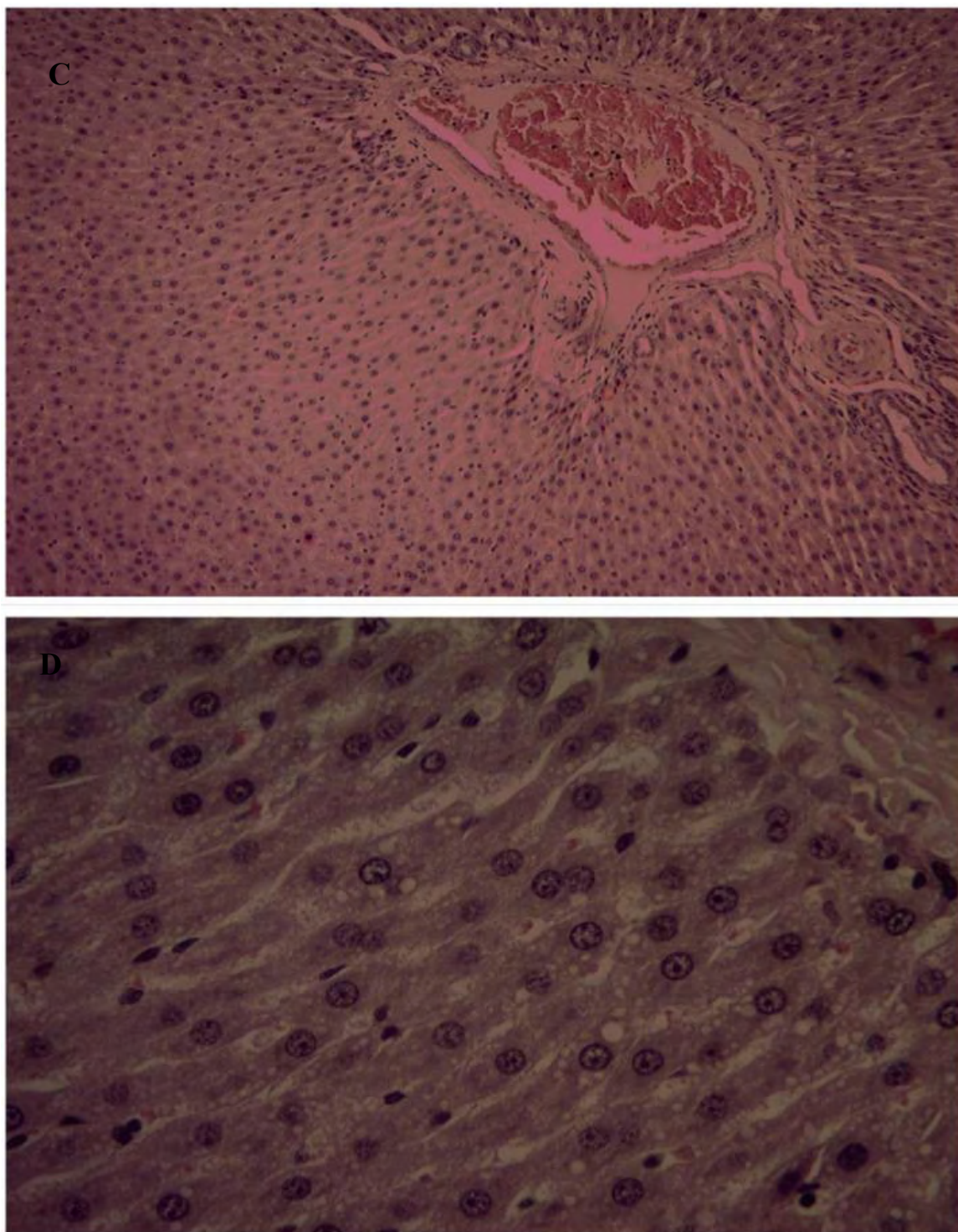


Figura 2- Fotomicrografia do fígado do Grupo controle (HE). C - Prênquima hepático aparentemente normal (100x). D - com algumas células adiposas (esteatose discreta) e presença macrófagos e de hemácias nos espaços sinusoidais (maior aumento 400x) - HE

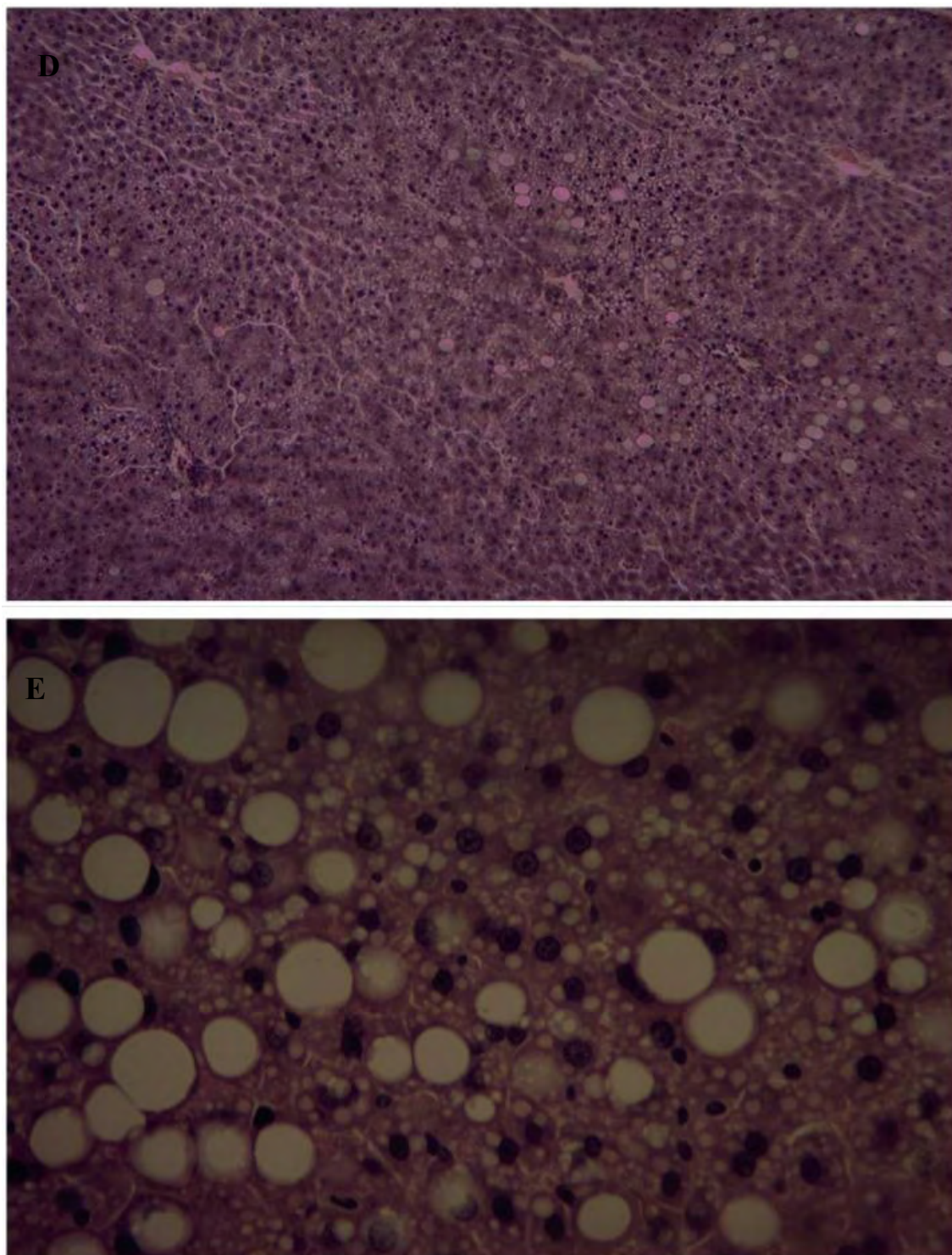


Figura 3: Fotomicrografia do fígado (HE) do Grupo tradicional – D: parênquima hepático com presença acentuada de células adiposas (100x). D - mostrando células adiposas com núcleo na periferia e vacúolos menores de gordura (400x);

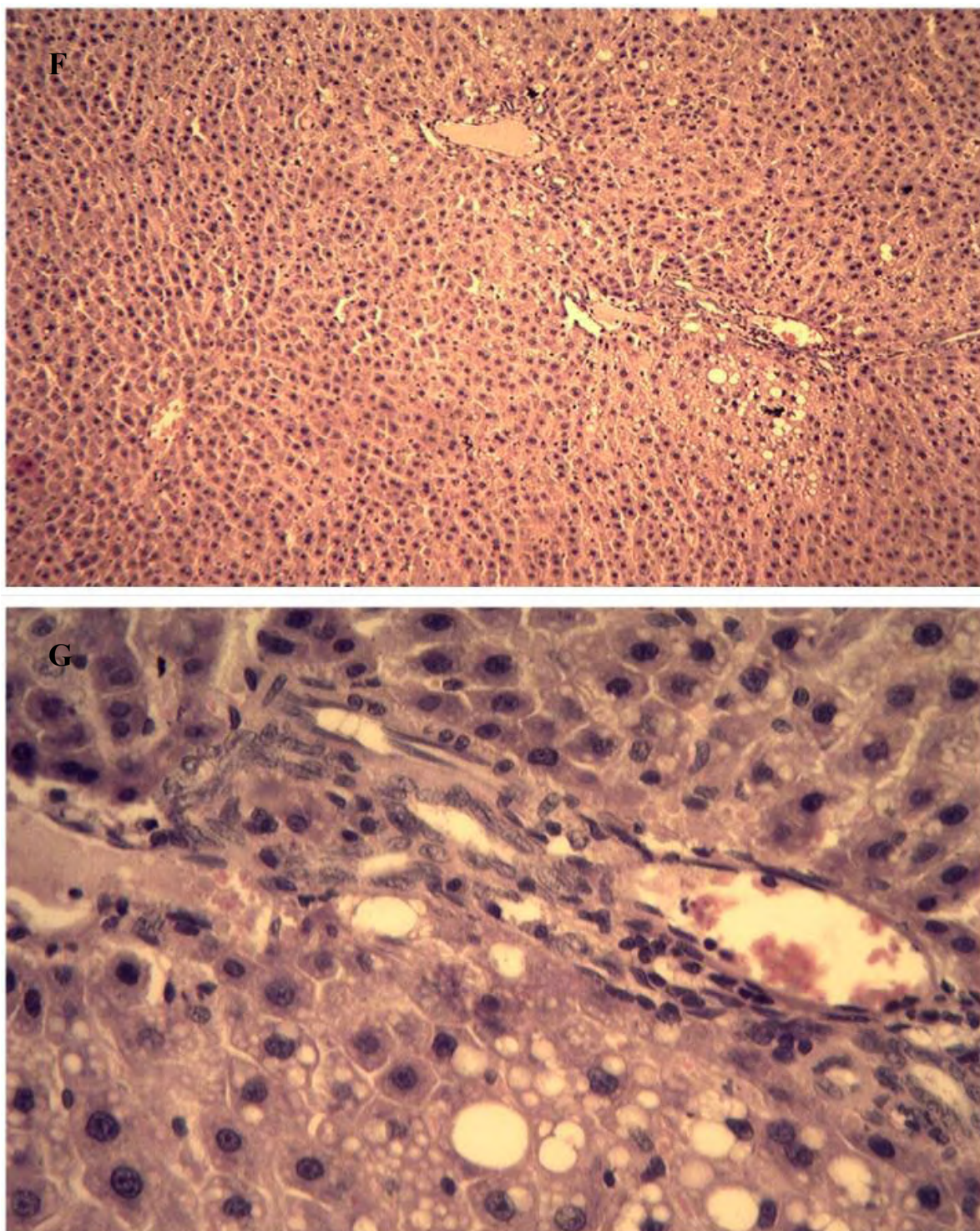


Figura 4 – Fotomicrografia do fígado (HE) - Grupo defumado. F - mostrando parênquima hepático com presença moderada de células adiposas e espaço porta (100x); G - mostrando presença moderada de infiltrado mononuclear próximo ao espaço porta e células adiposas nas proximidades (400x).

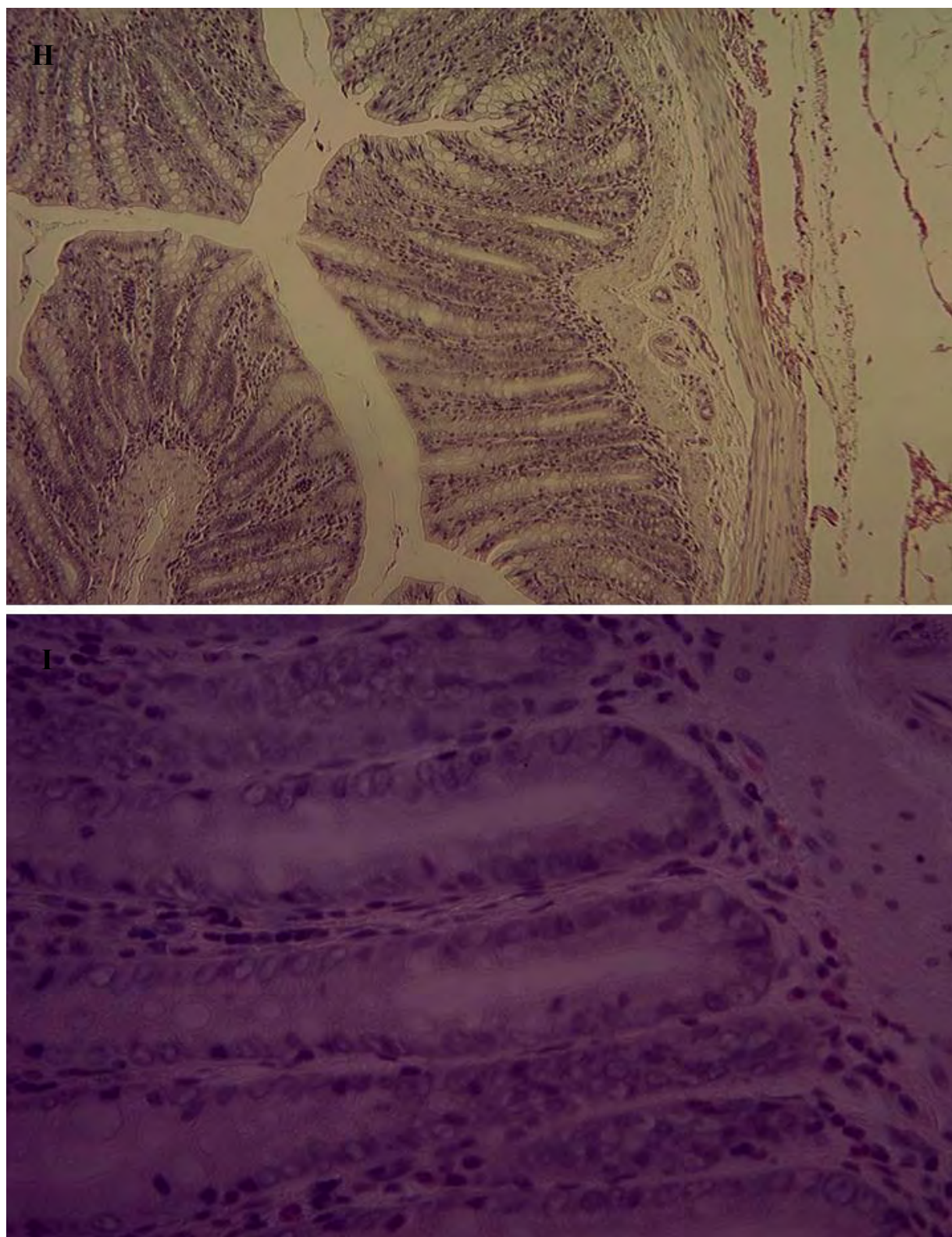


Figura 5 - Fotomicrografia de cólon (corte transversal) do Grupo controle (HE). H - mostrando todas as camadas com presença discreta de infiltrado mononuclear na camada conjuntiva e entre as vilosidades (100x); I – vilosidades sem alterações celulares e presença de macrófagos.

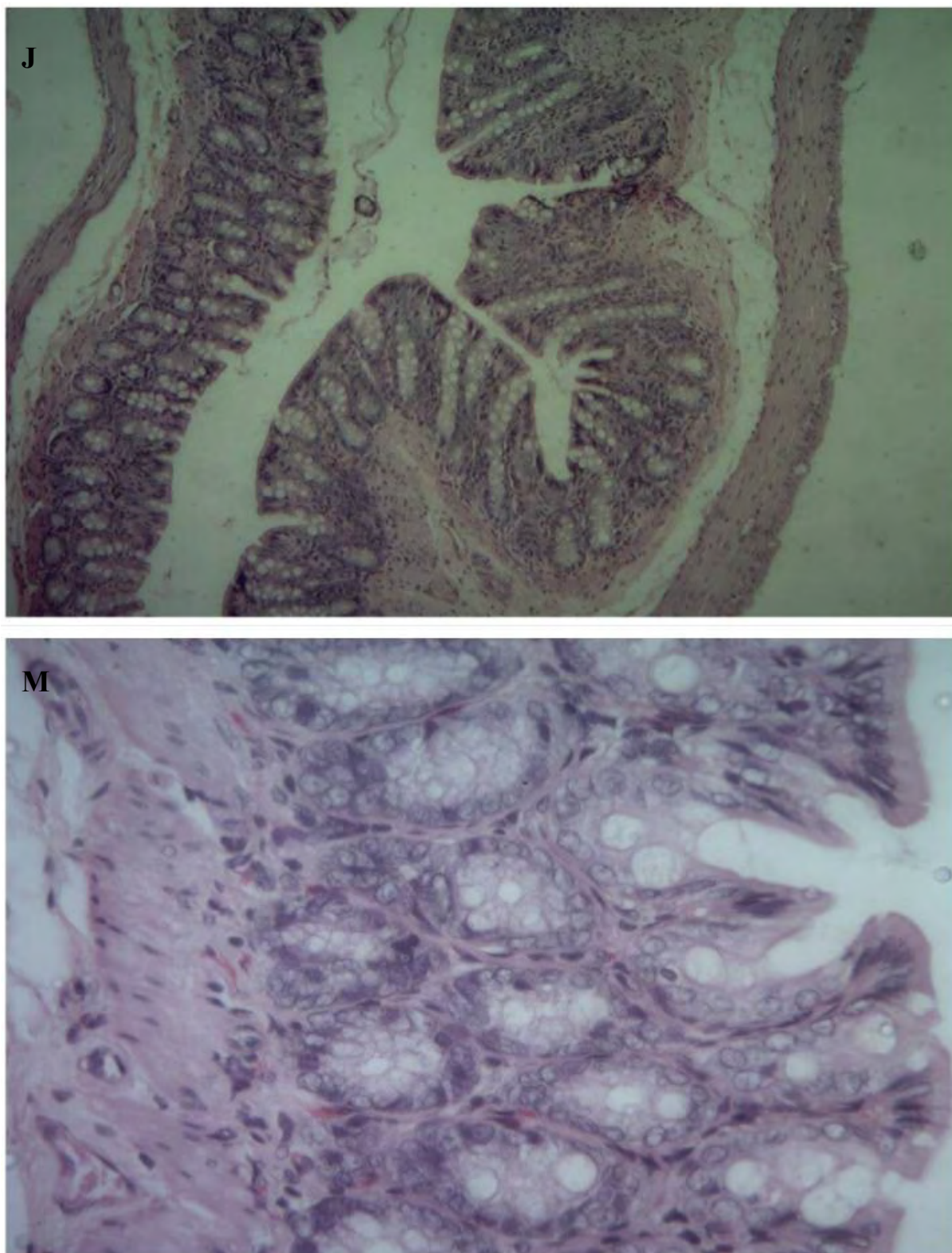


Figura 6 - Fotomicrografia de cólon (corte transversal) do Grupo tradicional (HE). L - mostrando todas as camadas com presença moderada de infiltrado mononuclear na camada conjuntiva (100x); M – vilosidades normais com presença de infiltrado discreto entre as vilosidades (400x).

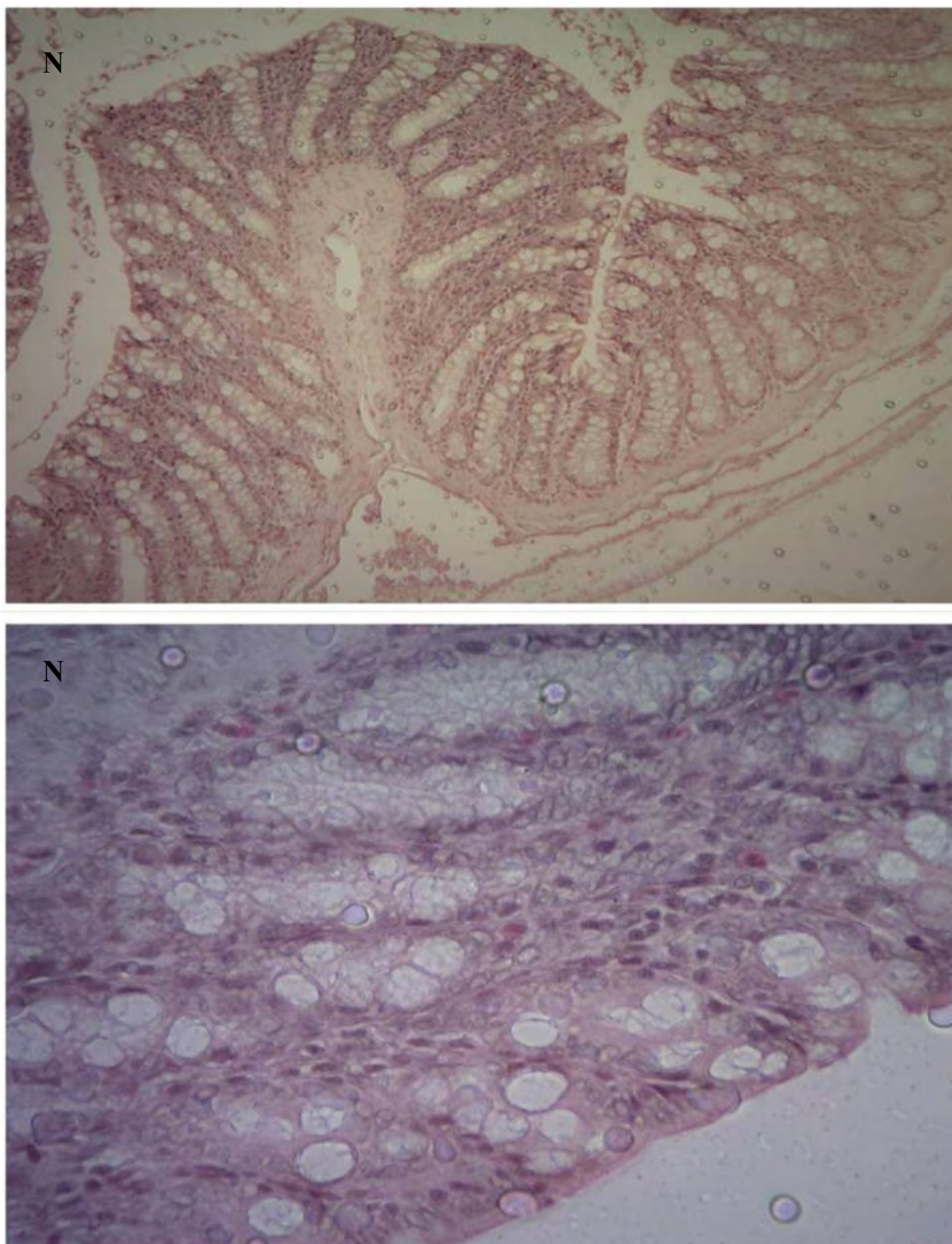


Figura 7 - Fotomicrografia de cólon (corte transversal) do Grupo defumado (HE). N- todas as camadas muscular externa, lâmina própria, mucosa, criptas e células caliciformes com sem alterações (100x); O - criptas e células caliciformes com aspectos normais e presença discreta de macrófagos (400x).