

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ANDERSON ROBERTO CABRAL

Perfil lipídico de hambúrgueres produzidos a partir de carne de bovinos
alimentados com fontes de óleo na dieta

Pirassununga

2016

ANDERSON ROBERTO CABRAL

Perfil lipídico de hambúrgueres produzidos a partir de carne de bovinos alimentados com fontes de óleo na dieta

(Versão corrigida)

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva

Pirassununga

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C117p Cabral, Anderson Roberto
Perfil lipídico de hambúrgueres produzidos a partir de carne de bovinos alimentados com fontes de óleo na dieta / Anderson Roberto Cabral ; orientador Saulo da Luz e Silva. -- Pirassununga, 2016.
81 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. linhaça. 2. soja. 3. girassol. 4. processados cárneos. 5. oxidação. I. da Luz e Silva, Saulo, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida, todas as glórias alcançadas e barreiras vencidas.

Aos meus pais Cristina e Cabral pela confiança e oportunidades que me foram dadas, aos meus irmãos Priscila, Neto e Ramon, aos meus cunhados Edson e Eni, aos meus sobrinhos Talita, Gustavo, Vinícius e Jonathan e aos primos e familiares aqui acolhidos por toda confiança, apoio, incentivos e alegrias.

À Universidade de São Paulo e Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade e estrutura para a realização do mestrado.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa no país (2013/24690-6), pela bolsa de estágio pesquisa no exterior (2014/23746-0) e auxílio financeiro (2012/50788-0) para o desenvolvimento do projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão das bolsas.

Ao meu orientador, professor Saulo, primeiramente pelo aceite em me orientar, pelo auxílio, ensinamentos, conselhos e por acreditar e confiar no meu trabalho.

À minha coorientadora, professora Angélica, pela confiança do projeto, auxílio, conselhos e conversas durante o mestrado.

À Fabiane por ter sido minha companheira de trabalho, de intercâmbio, auxílio em análises e discussões, além de companheira de balada.

Ao professor Fernando Baldi por todo auxílio na parte de estatística para a execução da discussão e compreensão dos resultados e a professora Mônica Mazalli pelas análises de colesterol e óxidos de colesterol.

Aos professores Marco Antonio de Trindade e Andrea Barretto pela participação da banca de defesa de dissertação e todas as contribuições a este trabalho.

A todos os estagiários que nos auxiliaram no desenvolvimento das atividades diárias no período experimental: Amanda (Kalanga), Breno (Chassi), Beatriz (Fechadura), Carol, Cauê (Sereia), Cristian, Daniel, Fernanda, Gabriel, Guilherme (Taco), Ivo, João, Júlia, Leandro (Lau), Lis (Faísca), Maísa, Mariana Durante, Mariana Landi, Mariana Palhares, Marília (Gir), Nayara, Raul (Caruncho), Samuel (Panada), Talles (Salsicha), Thiago (Kong),

Verônica, Vinícius (Barnabé) e em especial à Maria Eduarda que me auxiliou em todas as análises laboratoriais.

Aos funcionários Dione, João e Ricardinho pelo trato diário e manejo dos animais no período experimental.

Em nome do Cláudio, agradeço a todos os funcionários da fábrica de ração que nos ajudaram com as dietas em todo período experimental.

Em nome do Elso, agradeço a todos os funcionários do matadouro escola pelo auxílio em todas as atividades para a fabricação das amostras experimentais.

À Adrielle e Lenise do Laboratório da Ciência da Carne pelo auxílio nas análises laboratoriais de perfil de ácidos graxos, colesterol e óxidos de colesterol.

A todos do Departamento de Engenharia de Alimentos que de alguma forma auxiliaram para a execução da análise sensorial, além de todos que participaram.

À Barbara e Cristina pelo auxílio nas análises de TBARS.

À Camila do laboratório de Processos de Engenharia de Alimentos pelas análises de colesterol e óxidos de colesterol.

A todos do LAAQC e agregados Alemã, Aninha, Dan, Dani, Fábio, Guilherme, Henrique, Henrique Hooper, Juan, Juliana Balage, Juliana Silva, Katiéli, Keni, Lina, Madeline, Robertinha, Rosana e Tiago nos momentos de trabalho e diversão.

Ao Dr. Smith da Texas A&M University pela confiança e reconhecimento do trabalho durante o intercâmbio, aos companheiros de laboratório Camila, Jinhee e Terri, e a todos que de alguma forma foram meus amigos e fizeram eu me sentir em casa Andrew, Enoc, Hillary, Kinsey, Lindsay, Luciano e Taís.

Aos amigos pessoais Andrea, Capi, Inseto, Lívea, Guzerá, Natália, Nickole, Roberta e Tainá por todos os momentos de diversão, conselhos e amizade.

Meu muito obrigado a todos que participaram dessa etapa da minha vida! Sem vocês não teria conseguido.

RESUMO

Objetivou-se nesse trabalho avaliar os efeitos de fontes de óleo vegetal na dieta de bovinos Nelore em fase de terminação sobre a aceitação sensorial, teores de colesterol e óxidos de colesterol, composição de ácidos graxos e estabilidade oxidativa de hambúrgueres bovinos, avaliados após serem congelados e acondicionados a -18°C por 90 dias, então avaliados crus e grelhados. Foram confinados 96 bovinos, machos, castrados, Nelore, com aproximadamente 380 kg de peso inicial e idade média de 24 meses, alimentados com óleos de soja, girassol, linhaça e tratamento controle sem adição de óleo por 82 dias. A partir do músculo *Longissimus* e da gordura subcutânea dos animais foram produzidos hambúrgueres. Os hambúrgueres produzidos com carne de bovinos que receberam óleo de soja tiveram maior estabilidade lipídica, tanto para zero quanto para 90 dias de armazenamento quando comparado às outras dietas. O método cru de preparo também resultou em menores valores tanto para o tempo zero quanto para o tempo 90 dias de armazenamento, em relação ao método grelhado. Os hambúrgueres dos animais alimentados com o óleo linhaça resultaram em menores valores para o atributo sabor. O tempo zero dias de armazenamento dos hambúrgueres resultou em maiores notas dos consumidores para a textura e aceitabilidade global, em relação às amostras armazenadas por 90 dias. A porcentagem de ácidos graxos polinsaturados foi reduzida, independente dos tratamentos, após 90 dias de armazenamento. O CLA c9 t11 foi encontrado em maiores quantidades nas amostras dos animais alimentados com os óleos de linhaça e soja, para zero e 90 dias de armazenamento. O teor de colesterol aumentou após as amostras de hambúrgueres serem grelhadas, enquanto que não foi observado efeito para as fontes de óleos e os tempos de armazenamento. Foi observada a presença de óxidos de colesterol após as amostras serem armazenadas por 90 dias, independente das fontes de óleos utilizadas. O fornecimento de óleos insaturados para bovinos confinados aumenta a porcentagem de ácidos graxos polinsaturados em hambúrgueres produzidos com carne e gordura desses. A inclusão de óleos vegetais para bovinos aumenta a oxidação lipídica de hambúrgueres produzidos a partir de carne e gordura provenientes desses animais quando comparados a um tratamento sem inclusão de óleos vegetais. Hambúrgueres produzidos com carne e gordura de animais alimentados com óleos vegetais na dieta possuem maior oxidação lipídica após 90 dias de armazenamento quando comparados com os hambúrgueres do tempo zero e dos hambúrgueres do tratamento controle enquanto que o processamento térmico não foi responsável pela maior oxidação lipídica.

Palavras-chave: linhaça, soja, girassol, processados cárneos, oxidação

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of vegetable oil sources in Nellore diet in the finishing phase of the sensory analysis, cholesterol analysis and cholesterol oxides, fatty acid composition and oxidative stability of beef burgers, raw and packaged grilled at -18°C in two stages (storage for zero and 90 days). 96 cattle were confined, castrated male, Nellore, with about 380 kg of initial weight and average age of 24 months, fed soybean oil, sunflower, linseed and a control treatment without oil for 82 days. From the Longissimus muscle and subcutaneous fat of animals burgers were produced. The beef burgers receiving soybean oil had higher lipid stability for both zero and 90 days of storage as compared to other diets. The raw patties resulted in lower values for zero as well as 90 days of storage compared to the grill method. The animal burgers fed the flaxseed oil resulted in lower values for the attribute flavor. The burgers of storage time zero days resulted in higher grades by consumers for texture and overall acceptability compared to the samples stored for 90 days. The percentage of polyunsaturated fatty acids was decreased, regardless of the treatment after 90 days of storage. The CLA c9 t11 were found in larger quantities in samples of animals fed with linseed and soybean oils, and 90 to zero days of storage. The cholesterol content increased after samples of burgers were grilled, while there was no effect for the sources of oils and storage times. The presence of cholesterol oxides was observed after the samples were stored for 90 days, independent of the used oil sources. The supply of unsaturated oils to feedlot cattle increases the percentage of polyunsaturated fatty acids in hamburgers produced from meat and fat of these animals. The addition of vegetable oils for cattle increases lipid oxidation in hamburgers produced from meat and fat from these animals when compared to a treatment without addition of vegetable oils. Hamburgers produced from meat and fat animals fed with vegetable oils in the diet have higher lipid oxidation after 90 days of storage compared to burgers with zero storage time and the control treatment burgers, while the heat process is not responsible for the higher lipid oxidation.

Keywords: linseed, soybean, sunflower, meat processed, oxidation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Animais nas baias com portões eletrônicos	26
Figura 2 - Animais nas baias individuais	26
Figura 3 - Carcaças na câmara frigorífica	27
Figura 4 - Pesagem das amostras.....	29
Figura 5 - Moldagem dos hambúrgueres	29
Figura 6 - Hambúrguer embalado.....	29
Figura 7 - Imagem das cabines do Laboratório de análise sensorial	34
Figura 8 – Imagem do atendimento aos consumidores durante a realização do teste	34
Figura 9 – Médias dos valores de TBARS em função das fontes de óleo e dos tempos de estocagem dos hambúrgueres	55
Figura 10 - Médias dos valores de TBARS em função dos tratamentos e dos métodos de preparo dos hambúrgueres.....	57
Figura 11 - Médias dos valores de TBARS em função dos métodos de preparo e dos tempos de estocagem dos hambúrgueres	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição dos ácidos graxos dos óleos utilizados no experimento	19
Tabela 2 - Composição percentual das dietas (na matéria seca)	26
Tabela 3 - Composição dos hambúrgueres.....	28
Tabela 4 – Médias em composição percentual e erro padrão da média dos ácidos graxos de hambúrgueres crus e grelhados e dos tratamentos (Controle, Girassol, Linhaça e Soja).....	38
Tabela 5 – Médias em composição percentual e erro padrão da média dos ácidos graxos de hambúrgueres em função do tempo de armazenamento (zero e 90 dias) e dos tratamentos (Controle, Girassol, Linhaça e Soja)	47
Tabela 6 – Composição percentual em ácidos graxos de hambúrgueres em função do tempo de armazenamento (0 e 90 dias) e métodos de preparo (cru e grelhado)	52
Conclusão... Tabela 6 – Composição percentual em ácidos graxos de hambúrgueres em função do tempo de armazenamento (0 e 90 dias) e métodos de preparo (cru e grelhado)	53
Tabela 7- Médias e erro padrão da média (EPM) dos teores de colesterol em função dos tratamentos, métodos de preparo e tempos de armazenamento	60
Tabela 8 – Médias e erro padrão da média (EPM) na escala logarítmica ¹ e frequência de óxidos de colesterol de hambúrgueres em função dos tratamentos e tempos de armazenamento	62
Tabela 9 - Médias e erro padrão da média (EPM) dos atributos sensoriais em função dos tratamentos e tempos de armazenamento	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μ : micro

ABIEC: Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne

AG: Ácidos graxos

AGI: Ácidos graxos insaturados

AGMI: Ácidos graxos monoinsaturados

AGPI: Ácidos graxos polinsaturados

AGS: Ácidos graxos saturados

ASSOCON: Associação Nacional dos Confinadores

c10: cis 10

c6: cis 6

c8: cis 8

c9: cis 9

CLA: Ácido linoleico conjugado

cm^3/s : centímetro cúbico por segundo

CON: Controle

EPM: Erro padrão da média

ESALQ: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

FAO: Food and Agriculture Organization

FDA: Fibra em detergente ácido

FDN: Fibra em detergente neutro

FMVZ: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

FZEA: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

g: Grama

GIR: Girassol

H_2 : Hidrogênio

HDL-colesterol: lipoproteína de alta densidade

Kg: Kilogramas

LDL-colesterol: lipoproteína de baixa densidade

LIN: Linhaça

MAPA: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento

MDA: Malonaldeído

mg: miligramas

mL: Mililitro

MS: Matéria seca

n3: ômega 3

n6: ômega 6

NaCl: Cloreto de sódio

NRC: National Research Council

PIB: Produto interno bruto

RIISPOA: Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

RLM: Ração de lucro máximo

SOJ: Soja

SP: São Paulo

t10: trans 10

t11: trans 11

t9: trans 9

TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA: Ácido tricloroacético

TEC: Toneladas equivalente carcaça

USP: Universidade de São Paulo

WHO: World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	Consumo de carne e saúde humana	14
2.2	Uso de gorduras insaturadas na alimentação animal	16
2.3	Ácidos graxos polinsaturados e saúde humana	18
2.4	Óleos vegetais na alimentação bovina	19
2.5	Oxidação	20
3	HIPÓTESES	23
4	OBJETIVOS	24
4.1	Objetivo geral	24
4.2	Objetivos específicos	24
5	MATERIAL E MÉTODOS	25
5.1	Fase 1 – Confinamento dos animais	25
5.2	Fase 2 – Abate e preparo dos hambúrgueres	27
5.3	Tempo de armazenamento	30
5.4	Modo de preparo	30
5.5	Composição de Ácidos Graxos dos hambúrgueres	30
5.6	Determinação das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	31
5.7	Colesterol e Óxidos de Colesterol	32
5.8	Análise Sensorial	33
5.9	Análise estatística	34
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6.1	Composição de ácidos graxos	36
6.2	Substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	54
6.3	Colesterol e Óxidos de Colesterol	59
6.4	Análise Sensorial	63
7	CONCLUSÕES	66
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
	ANEXO A	78
	ANEXO B	80
	ANEXO C	81

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O agronegócio é de suma importância para a economia, sendo responsável por cerca de 1/3 do produto interno bruto (PIB) brasileiro e a produção de carne bovina possui papel de destaque no agronegócio (BARROS et al., 2006). Com relação à produção de carne bovina, o Brasil destaca-se por possuir o maior rebanho comercial do mundo com cerca de 208 milhões de cabeças em 2015, nesse mesmo ano, cerca de 42,1 milhões de cabeças foram abatidas para uma produção de carne de 10,1 milhões de toneladas equivalente carcaça (TEC) em que aproximadamente 20,1% desta produção foi destinada para exportação (2,09 milhões TEC) (ABIEC, 2015a).

Até 2020, a expectativa é que a produção brasileira de carnes suprirá 44,5% do mercado mundial (MAPA, 2015). Portanto, para suprir parte dessa demanda de carne bovina, serão necessários investimentos que resultem no aumento da produtividade do rebanho.

Uma das estratégias utilizadas para o aumento da produtividade da bovinocultura de corte é confinar os animais na fase de terminação com dietas contendo altos teores de concentrado, pois promovem maiores ganhos de peso e acabamento de carcaça, em relação ao sistema extensivo convencional (DE MEDEIROS BULLE et al., 2002).

A preocupação com a composição dos alimentos que são ingeridos pelos consumidores tem sido cada vez maior e os produtos de origem animal, como a carne, que contribui de forma significativa no total de nutrientes necessários para o bom funcionamento do organismo, com o fornecimento de vitaminas e minerais, além de ser uma ótima fonte proteica de alto valor biológico e de ácidos graxos essenciais (DE MEDEIROS, 2008; DO VALLE, 2000; LOBATO; FREITAS, 2006; NRC, 2001).

A carne bovina é um alimento rico em ácidos graxos saturados (AGS) e as recomendações médicas e nutricionais são para a redução do consumo de gorduras saturadas, devido sua relação com o aumento dos níveis das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol) quanto no aumento do risco de doenças cardiovasculares (ZELMAN, 2011). As recomendações também são feitas para o aumento da ingestão dos ácidos graxos polinsaturados (AGPI) com uma relação AGPI:AGS na dieta maior que 0,45 para refeições diárias (DEPARTMENT OF HEALTH, 1994).

Uma alternativa para alterar o perfil de ácidos graxos da carne, é o fornecimento de alimentos ricos em ácidos graxos insaturados, como são as fontes de óleos vegetais, uma vez que dependendo da composição da fonte fornecida e do metabolismo ruminal, pode-se aumentar a absorção intestinal de AGPI devido à biohidrogenação incompleta dos AGPI no rúmen e estes podem ser incorporados nos tecidos.

Segundo previsões da Comissão do *Codex Alimentarius* (1994), até 2020, o hambúrguer será o prato mais difundido no mundo, superando a pizza. O hambúrguer é um alimento bastante apreciado pela população brasileira e mundial. Este, por sua vez, pode ser produzido a fim de agregar valor às carnes de descarte ou carnes de menor valor comercial, podendo também ser elaborado com a inclusão de cortes nobres para nichos de mercado que pagam por produtos especiais.

Segundo o MAPA, através da instrução normativa nº20 (MAPA, 2000), o total de gordura máximo que um hambúrguer pode conter é 23% e o mínimo de proteína é de 15%.

No momento do processamento da carne e gordura para a fabricação dos hambúrgueres, as frações lipídicas podem sofrer alterações caráter físico químico afetando as qualidades sensoriais dos alimentos, principalmente pela maior área de contato após o processamento e maior exposição às condições que favorecem à deterioração, podendo apresentar características prejudiciais à saúde humana.

Visto que esse tipo de processado cárneo pode conter altos teores de gordura em sua composição e que seu processamento favorece a deterioração, torna-se importante a realização de pesquisas que envolvam o estudo de hambúrgueres produzidos a partir de bovinos confinados alimentados com dietas contendo diferentes fontes lipídicas, a fim de avaliar características físico químicas em condições comerciais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Consumo de carne e saúde humana

Nas últimas décadas, a preocupação dos consumidores em relação à saúde e ao aumento da qualidade de vida é cada vez mais frequente, levando-os a adotar hábitos mais saudáveis, entre os quais, a alimentação tem um papel de destaque quando há refeições equilibradas dos nutrientes.

O consumo de carne bovina é de grande importância no âmbito mundial e nacional sendo a terceira proteína animal mais consumida no mundo e a segunda mais consumida no Brasil (USDA/FAS, 2015). O consumo mundial de carne bovina em 2015 foi de aproximadamente 56,5 milhões de toneladas equivalente carcaça (TEC) com estimativas de aumento para 57 milhões TEC para 2016, cerca de 1%, enquanto que o consumo brasileiro de carne bovina em 2015 foi cerca de 7,87 milhões TEC e com perspectivas de aumento para 7,89 milhões TEC para 2016 (USDA/FAS, 2015). O consumo de carnes varia enormemente entre os países, variando de uma pequena porcentagem até 100% de pessoas que comem carne dependendo do país, e proporções menores de consumo de carne processada (IARC/WHO, 2015).

A composição lipídica dos alimentos é uma das principais preocupações no momento da escolha do alimento pelo consumidor, pois alimentos com altos teores de gordura saturada, como as gorduras de origem animal, têm sido relacionados às doenças cardiovasculares (McAFEE et al., 2010).

Deste modo, encontra-se constantemente na literatura e na mídia recomendações médicas e nutricionais para que haja uma redução da ingestão total de gordura, principalmente as gorduras saturadas e o aumento do consumo de fontes de ácidos graxos polinsaturados (COSTA, 2008), pois AGS aumentam os teores de colesterol do plasma sanguíneo, enquanto que os AGPI reduzem os níveis de colesterol sanguíneo (COSTA et al., 2009), assim, valores superiores a 0,45 da relação AGPI:AGS na dieta são desejáveis (DEPARTMENT OF HEALTH, 1994).

Vale salientar que doenças cardiovasculares também estão correlacionadas com alguns fatores “não-controláveis” tais como a idade e o histórico familiar (genética) ou “controláveis” tais como inatividade física, fumo, obesidade, diabetes, pressão alta, altos níveis de colesterol total e LDL-colesterol e baixos níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL-colesterol) além da preocupação com consumo alimentar (DO VALLE, 2000).

Além da preocupação com a quantidade de gordura ingerida, Medeiros (2003) identificou o teor de colesterol da carne como um dos principais motivos dos consumidores evitarem o consumo de carne bovina. Mas essa tendência não tem fundamentos, pois a carne bovina apresenta teor de colesterol médio de 50 mg/100g, semelhante ao da carne suína (cerca de 50 mg/100g) e ao da carne de frango (cerca de 58 mg/100g para a carne branca) que é considerada saudável pelos consumidores (BRAGAGNOLO; RODRIGUEZ-AMAYA, 1992, 1995). De acordo com *American Heart Association* (DAVIS; McMURRY; McMURRY, 2009) a ingestão máxima diária de colesterol deve ser de 300 mg. Um bife de contra-filé com cerca de 200 g, que corresponde, no máximo, a 1/3 da recomendação diária.

Cerca de 80% do rebanho brasileiro possui animais com gene *Bos indicus* (ABIEC, 2015b), assim proporcionalmente a ingestão de carne bovina provém, principalmente desse grupo genético. Estudos sugerem que animais com gene *Bos indicus* possuem maior proporção de ácidos graxos saturados quando comparados com animais *Bos taurus*.

Rossato et al. (2009) encontraram valores superiores de AGS para animais *Bos indicus* (54,32%) quando comparados com animais *Bos taurus* (51,35%). Resultados semelhantes foram observados por Rodrigues et al. (2004), que relataram valores de 42,1% de AGS em animais da raça Nelore, 39,8% em animais mestiços Nelore x Sindi, e por Laborde et al. (2001) que relataram valores de 44,13% em animais da raça Simental e 46,22% em animais da raça Red Angus. A concentração dos teores de colesterol também é diferente nos diferentes grupos genéticos, sendo menores na carne de animais Nelore ou cruzados (com sangue zebuíno) do que aquelas observadas em europeus (DO VALLE, 2000).

De acordo com declaração da *International Agency for Research on Cancer* (IARC/WHO) (2015), após analisarem grupos de estudos de 22 especialistas de 10 diferentes países, o consumo de carne vermelha foi classificada como “provavelmente carcinogênica para humanos” (grupo 2A) baseado em evidências limitadas que o consumo de carne vermelha causa câncer em humanos e fortes evidências suportando o efeito carcinogênico. Essas associações foram observadas principalmente para câncer colorretal, mas associações foram também encontradas para câncer pancreático e de próstata.

A carne processada foi classificada como “carcinogênica para humanos” (grupo 1), baseado em evidências suficientes em humanos que o consumo de carne processada causa câncer colorretal (IARC/WHO, 2015). Essas evidências foram provenientes de 800 estudos que investigaram associações de mais de 12 tipos de câncer com o consumo de carne

vermelha e carne processada em diversos países e populações com diversas dietas avaliado nos últimos 20 anos.

Especialistas concluíram que a cada 50 g de carne processada ingerida diariamente aumenta o risco de câncer colorretal em 18% (IARC/WHO, 2015). Existem trabalhos que associam doenças cardiovasculares com o consumo de carnes processadas (FERGUSON, 2010; McAFEE et al., 2010). Estudos mostram que o consumo excessivo de carne processada pode levar ao câncer, pois esses produtos podem conter conservantes (nitritos, nitratos e outros conservantes) (FERGUSON, 2010; McAFEE et al., 2010) além da maior exposição à condições que favorecem a oxidação e deterioração desse tipo de alimento.

2.2 Uso de gorduras insaturadas na alimentação animal

A utilização de fontes de óleos vegetais na dieta é uma estratégia nutricional que tem sido utilizada para alterar a composição lipídica da carne, pois dependendo da composição da fonte lipídica e do metabolismo ruminal o animal pode aumentar a absorção intestinal de ácidos graxos polinsaturados e incorporá-los no tecido muscular e adiposo.

De Menezes et al. (2009) observaram valores superiores para ganho de peso diário, consumo e conversão alimentar de bovinos terminados em confinamento com dietas com adição de óleos, com ganhos de 11, 2 e 8%, respectivamente, superiores quando comparado com dietas sem a inclusão de óleos. No entanto, a concentração de lipídeos nas dietas de ruminantes deve ser baixa, de 1 a 5% da matéria-seca (KOZLOSKI, 2009), podendo chegar até 7% de extrato etéreo na matéria seca. Valores superiores a estes podem diminuir a degradação ruminal dos alimentos (JORGE et al., 2008), prejudicando assim o metabolismo ruminal e o desempenho dos animais.

Os AGPI ao chegarem ao rúmen passam por um processo denominado biohidrogenação. Esta etapa ocorre por ação das bactérias ruminais *Butyrivibrio fibrisolvens*, que inserem moléculas de hidrogênio nas ligações insaturadas tornando-as saturadas (CHURCH, 1993; KEPLER; TUCKER; TOVE, 1970). Visto que os ácidos graxos insaturados podem ser tóxicos para os microrganismos ruminais, a biohidrogenação é utilizada como uma forma de proteção ruminal contra os efeitos deletérios dos ácidos graxos insaturados (SANTOS et al., 2001). Por meio da biohidrogenação incompleta, os ácidos graxos insaturados deixarão o rúmen e podem ser absorvidos no intestino e incorporados nos tecidos muscular e adiposo (CHOI; PALMQUIST, 1996).

Os diferentes sistemas de produção de ruminantes podem interferir na relação de ômega 6: ômega 3 (n6:n3) nos produtos provenientes desses animais, os animais produzidos em sistemas extensivos, possuem produtos com relação n6:n3 baixa quando comparadas com os animais tratados completamente em sistema intensivo, mesmo com o efeito da biohidrogenação ruminal (ROWE et al.; 1999). Nuernberg et al. (2005) relataram que os produtos provenientes dos animais no sistema extensivo e terminados em sistema intensivos possuem uma relação n6:n3 próxima aos animais produzidos exclusivamente em sistemas extensivos.

Existem dois grupos distintos que fazem essa etapa de transformação (STAPLES, 2009). O primeiro grupo realiza a biohidrogenação do ácido linoleico (C18:2 n6) e ácido linolênico (C18:3 n3) a ácido transvacênico (C18:1 t11) e as bactérias do segundo grupo realizam a biohidrogenação de uma grande extensão de cis e trans C18:1 a esteárico (C18:0) (DEMEYER; DOREAU, 1999).

O ácido linoleico conjugado (CLA) é um rearranjo de ácidos graxos polinsaturados que estão presentes na carne e no leite de ruminantes. Apesar do CLA ser um termo utilizado para 28 isômeros, os compostos predominantemente mais estudados são o cis 9 trans 11 e o trans 10 cis 12, oriundos da biohidrogenação do ácido linolênico.

Em bovinos, o C18:2 c9 t11 é formado como um primeiro intermediário na biohidrogenação ruminal do ácido linoleico (C18:2 n6) pelas bactérias ruminais (PARIZA; PARK; COOK, 2001). Em seguida, ocorre a produção do ácido graxo monoinsaturado (AGMI) C18:1 t11. Quando a biohidrogenação é incompleta, C18:2 c9 t11 deixa o rúmen e é absorvido e incorporado nos produtos e tecidos. Este, também pode ser sintetizado a partir do ácido graxo C18:1 t11 pela via endógena, através da enzima delta-9-dessaturase (GRIINARI et al., 2000). A via endógena, parece ser a principal via de formação do C18:2 c9 t11, presente na gordura de ruminantes (BAUMAN et al., 2000).

Na literatura é possível encontrar trabalhos que utilizaram fontes de lipídeos na dieta dos ruminantes com a finalidade de promover alterações lipídicas, melhorias em desempenho, entre outros (BEAULIEU; DRACKLEY; MERCHEN, 2002; FRENCH et al., 2000; GONZÁLEZ et al., 2014; JORGE et al., 2009; MAIA; PARENTE; ARAÚJO, 2013; SILVA et al., 2007).

Embora existam diversos estudos com essa utilização, ainda fazem-se necessárias pesquisas que disponibilizem dados quanto aos produtos finais, como a carne e

principalmente dos produtos cárneos, como hambúrgueres, pois após o processamento da carne, a composição lipídica pode sofrer alterações.

Uma série de ingredientes pode compor a dietas dos ruminantes visando aumentar a concentração de energia da dieta e alterar o perfil dos ácidos graxos depositados, tais como os sais de cálcio de ácidos graxos (AFERRI, 2003; COSTA, 2008; MEDEIROS, 2002), canola (MEDEIROS, 2002), milho (MEDEIROS, 2002), caroço de algodão (AFERRI, 2003; JORGE et al., 2008; MOREIRA, 2011), linhaça (MEDEIROS, 2002; WADA et al., 2008), óleo de linhaça (GONZÁLEZ et al., 2014), óleo de soja (COSTA, 2008; GONZÁLEZ et al., 2014; SILVA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008), grão de soja (SILVA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008), semente de girassol (FELTON; KERLEY, 2004) e óleo de girassol (GONZÁLEZ et al., 2014; MIR et al., 2002), entre outros.

2.3 Ácidos graxos polinsaturados e saúde humana

O ácido linoleico (C18:2 n6) e o ácido linolênico (C18:3 n3) são ácidos graxos polinsaturados, essenciais na dieta humana e dietas ricas destes podem estar associados com a prevenção de doenças cardiovasculares e redução dos níveis de LDL-colesterol (DE LORGERIL et al., 1994). São abundantemente encontrados em fontes de óleos vegetais, podendo ter sua concentração aumentada na carne em função do fornecimento de dietas ricas em óleos ou sementes oleaginosas aos animais (DEMEYER; DOREAU, 1999).

A ingestão de n6 e n3 está associada com benefícios à saúde humana, mas é importante que a relação n6:n3 na dieta, seja mantida abaixo de 5:1 e que não seja superior a 10:1, segundo a *World Health Organization (WHO)/Food and Agriculture Organization (FAO)* (1994). De acordo com o *Department of Health* (1994) os valores ideais devem ser no máximo 4:1 e, segundo Martin et al. (2006), essa relação não pode ser menor que 1:1. Alguns estudos mostram que hoje essa relação situa-se de 15:1 a 40:1 na dieta ocidental (SIMOPOULOS, 2002, 2006), muito superior ao ideal.

Em estudo clínico avaliando prevenção secundária em pacientes pós-infarto do miocárdio através de uma dieta experimental mediterrânea, caracterizada por ser rica em n3 e mais pobre em n6, foi relatada uma redução de até 70% na mortalidade total (KRIS-ETHERTON; FLEMING; HARRIS, 2010).

Os estudos do CLA estão principalmente correlacionados com a associação de efeitos benéficos para a saúde, tais como a inibição da carcinogênese e por possuir propriedades

antiaterogênica (FERGUSON, 2010; McAFEE et al., 2010). O CLA é encontrado apenas em produtos de origem animal (carne e laticínios) e não pode ser produzido pelo organismo humano (LOBATO; FREITAS, 2006).

2.4 Óleos vegetais na alimentação bovina

Como pode ser visto há grande utilização dos óleos de girassol, soja e linhaça para a modificação do perfil de ácidos graxos nos produtos de origem animal, dentre eles os ruminantes, mas os mesmos apresentam grande variabilidade em sua composição de ácidos graxos (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição dos ácidos graxos dos óleos utilizados no experimento

ÓLEO VEGETAL	ÁCIDOS GRAXOS / NOMENCLATURA				
	Valores de referência (%)				
	Palmítico C16:0	Esteárico C18:0	Oleico C18:1	Linoleico C18:2	Linolênico C18:3
Soja	10,3	3,8	22,8	51,0	6,8
Girassol	5,4	3,5	45,3	39,8	0,2
Linhaça	5,3	4,1	20,2	12,7	53,3

Fonte: Adaptado de Moshkin (1986), NRC (2001) e Paula; Maia; Chen (2012).

O óleo de girassol apresenta cerca de 40% a 60% de ácido linoleico em sua composição (MOSHKIN, 1986; PAULA; MAIA; CHEN, 2012). A utilização desse ingrediente na dieta de novilhos Wagyu, Wagyu x Limousin e Limousin, aumentou a concentração de CLA na carne em 339% (MIR et al., 2002).

O óleo de soja possui em sua composição altos teores de ácido linoleico (C18:2 n6). Novilhos da raça Angus, alimentados com diferentes níveis de óleo de soja na dieta tiveram acréscimo de CLA na carne (BEAULIEU; DRACKLEY; MERCHEN, 2002).

O óleo de linhaça demonstra ser uma excelente fonte do ácido graxo linolênico (C18:3 n3) com cerca de 53,3% em sua composição. Enser et al. (1999) observaram um aumento na concentração de CLA na carne de bovinos que receberam este óleo na dieta. Martin et al. (2006) apresentaram cerca de 533 mg/g do ácido graxo C18:3 n3 em óleo de linhaça, sendo assim uma excelente fonte desse recurso.

Por serem ricos em ácidos graxos polinsaturados, óleos vegetais citados estão mais propensos a sofrer maiores alterações pela oxidação e com reações com maior velocidade (CANTOR; DECKER; COLLINS, 2000; GORDON, 2004).

2.5 Oxidação

Alterações pela oxidação podem ocorrer em algumas frações proteicas ou lipídicas. O colesterol é um lipídeo insaturado, constituinte de produtos de origem animal, de grande importância em funções no organismo humano, está presente em todas as membranas celulares, é chave intermediária na síntese de ácidos biliares, hormônios e participa da síntese da vitamina D₃ (BAGGIO; BRAGAGNOLO, 2004).

Sendo o colesterol um lipídeo, está sujeito à oxidação quando submetidos a condições como a exposição ao ar, temperaturas elevadas, iniciadores de radicais livres, luz ou a combinação dos mesmos (SMITH, 1987), podendo assim reduzir a vida útil dos alimentos e ser um carreador de deterioração da qualidade desses produtos. Além do colesterol, os ácidos graxos também estão sujeitos à oxidação, sendo os ácidos graxos insaturados os que possuem estruturas mais susceptíveis ao processo oxidativo (RAMALHO; JORGE, 2006).

A fragmentação e mistura da carne desfaz-se a estrutura muscular da mesma, aumentando a superfície de exposição ao oxigênio e outros catalisadores da oxidação, o que pode dar origem a radicais livres que podem desencadear reação de oxidação do colesterol (NOVELLI et al., 1998) e pode favorecer a formação do malonaldeído (MDA) (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005).

Produtos com proporção elevada de ácidos graxo insaturados ficam mais susceptíveis a oxidação de lipídeos (MACRAE et al., 1993; SALIH et al., 1989), pois os ácidos graxos insaturados são os principais substratos da reação de oxidação lipídica pelas ligações duplas que são centros ativos que podem reagir com o oxigênio. Os ácidos graxos insaturados oxidam-se mais facilmente quando estão livres, podendo o grau de insaturação influir na velocidade da reação (ALLEN; HAMILTON, 1994).

Dessa forma, é preciso avaliar os produtos em condições comercialmente praticadas para verificar se há a formação de óxidos de colesterol que são considerados agentes aterogênicos e com propriedades mutagênicas e carcinogênicas sendo mais prejudiciais à saúde humana do que o colesterol.

Os óxidos comumente encontrados em alimentos, como o 7-cetocolesterol, 25-OH, 7 α -OH, 7 β -OH, 5,6 α -epóxido, 5,6 β -epóxido e Triol, são citotóxicos e aterogênicos, em diferentes graus (BÖSINGER; LUF; BRANDL, 1993) apresentando um papel maior na formação de placas ateroscleróticas do que o próprio colesterol (HUBBARD; ONO; SANCHEZ, 1989; KUMAR; SINGHAL, 1991; PENG; TAYLOR, 1984), sendo que o colesterol, por si só, apresenta menor efeito citotóxico e aterogênico (IMAI et al., 1976, 1980;

PENG; HU; MORIN, 1991). O óxido de colesterol 7-cetocolesterol em geral tem sido encontrado em concentrações mais altas em produtos alimentícios, e por isso, apontado como eventual indicador da oxidação do colesterol (LERCKER; RODRIGUEZ-ESTRADA, 2000; TENUTA-FILHO et al.; 2003).

Assim, a oxidação do colesterol é considerada um fator de risco para a saúde humana (NOVELLI et al., 1998). Óxidos de colesterol não ocorrem em alimentos frescos, ou ocorrem em quantidade mínima, o que significa dizer que o processo oxidativo se dá durante o processamento e/ou armazenamento (MORALES-AIZPURÚA; TENUTA-FILHO, 2002).

Com a auto-oxidação há a formação de hidroperóxidos que são compostos relativamente instáveis que se decompõem formando compostos aromáticos voláteis, que serão responsáveis por causar um sabor estranho (*off-flavours*). Dentre esses compostos voláteis, estão presentes os aldeídos que contribuem para os *off-flavours* desenvolvidos pela oxidação lipídica, que podem aparecer no decurso de processos da transformação e armazenamento.

O efeito nocivo das reações de oxidação dos lipídios pode ser minimizado basicamente com refrigeração, acondicionamento e armazenamento adequados, embora a reação não seja detida por completo já que a auto-oxidação requer energia de ativação reduzida (ALLEN; HAMILTON, 1994). Essas alterações tem principal consequência à modificação original do odor e sabor com o aparecimento de compostos característicos do ranço (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Além de prejudicar a aceitação pelos consumidores, a ingestão contínua prolongada de produtos rancificados pode ser prejudicial à saúde (BAGGIO, 2004).

Os hidroperóxidos de ácidos graxos polinsaturados decompõem compostos, com formação de produtos que incluem hexanal, pentanal e malonaldeído (aldeídos) (PEARSON et al., 1983). A oxidação lipídica é uma das principais reações que podem ocorrer durante o armazenamento dos alimentos quando submetidos a condições como calor, presença de luz, metais, sensibilizadores naturais e oxigênio, afetando a composição dos ácidos graxos e colesterol, podendo haver formação de compostos potencialmente nocivos à saúde humana como os óxidos de colesterol (BAGGIO, 2004).

A estabilidade da carne por meio de modificações oxidativas que ocorrem nos produtos cárneos pode ser quantificada, avaliando-se os produtos secundários da degradação (DREHMER, 2005), como as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), considerado um bom indicador da deterioração das características sensoriais dos produtos cárneos devido à oxidação (CRACKEL et al., 1988).

Os compostos provenientes da oxidação lipídica de forma geral, incluindo os óxidos de colesterol, podem estar associados com doenças cardiovasculares e outras doenças degenerativas, tais como o mal de Alzheimer (WONG; HASHIMOTO; SHIBAMOTO, 1995).

As frações lipídicas podem sofrer alterações químicas durante o armazenamento e processamento, tais como acontece com a carne e gordura através da fabricação de hambúrgueres em condições comerciais, as alterações podem ser de caráter físico químico afetando as qualidades sensoriais dos alimentos (BAGGIO, 2004). Assim como pode ser observado nos trabalhos de Baggio (2004) e Machado (2009), o tempo de armazenamento em até 120 dias altera a composição de processados cárneos. A validade média utilizada comercialmente para hambúrgueres bovinos é de 90 dias, o tempo utilizado comercialmente pode favorecer alterações físico químicas dos produtos.

O método de cocção pode aumentar a oxidação do colesterol (ECHARTE; ANSORENA; ASTIASARÁN, 2003; NOGUEIRA; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007a, 2007b). O preparo térmico de carnes e processados cárneos pode alterar a composição dos ácidos graxos e contribuir para a formação de óxidos de colesterol (BAGGIO, 2004).

Desta forma, é fundamental a realização de estudos para avaliar o efeito do fornecimento de ingredientes ricos em ácidos graxos insaturados na dieta de bovinos, na fase de terminação, e sua relação com as características físicas, químicas e sensoriais de hambúrgueres crus e grelhados, e o tempo de armazenamento utilizado comercialmente visando o melhor entendimento de eventuais benefícios ou prejuízos à saúde dos consumidores devido à ingestão destes produtos.

3 HIPÓTESES

- O fornecimento de óleos insaturados para bovinos confinados aumenta a percentagem de ácidos graxos polinsaturados nos hambúrgueres;

- Hambúrgueres produzidos com carne e gordura de animais alimentados com óleos insaturados apresentarão maior oxidação lipídica quando comparados a um tratamento controle sem adição de óleo vegetal;

- Hambúrgueres produzidos com carne e gordura de animais alimentados com óleos insaturados apresentarão maior oxidação lipídica após 90 dias de armazenamento, quando comparados a um tratamento controle e aos hambúrgueres com tempo zero de armazenamento;

- Hambúrgueres produzidos com carne e gordura de animais alimentados com óleos insaturados apresentarão maior oxidação lipídica após o processamento térmico, quando comparados a um tratamento controle e aos hambúrgueres crus.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de fontes de óleo vegetal na dieta de bovinos sobre características físicas, químicas e sensoriais de hambúrgueres crus ou grelhados, sem armazenamento ou armazenados por 90 dias.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar as características sensoriais, o perfil de ácidos graxos, a oxidação lipídica e o colesterol e óxidos de colesterol de hambúrgueres produzidos com carne e gordura de bovinos alimentados com óleos de girassol, linhaça e soja, durante a fase de terminação em confinamento;

- Avaliar o efeito do tempo de armazenamento dos hambúrgueres sobre o perfil de ácidos graxos, oxidação lipídica, colesterol/óxidos de colesterol e características sensoriais.

- Avaliar o efeito do tratamento térmico sobre o perfil de ácidos graxos, oxidação lipídica, colesterol/óxidos de colesterol e características sensoriais.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Campus da Universidade de São Paulo, em Pirassununga-SP. O experimento faz parte do trabalho “Produção de carne bovina com enfoque nos ácidos graxos: o entendimento da gordura e suas possíveis alterações”, aprovado pela FAPESP na modalidade Primeiros Projetos (Processo FAPESP: 2012/50788-0).

O protocolo experimental foi aprovado em 17 de agosto de 2011 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sob o nº 2324/2011 (Anexo A).

O estudo foi dividido em duas fases: Fase 1 – Alimentação de 96 bovinos, em sistema de confinamento, por um período de 82 dias, com dietas contendo diferentes fontes de óleos vegetais; Fase 2 – Abate dos animais e coleta de tecido muscular e adiposo para preparação dos hambúrgueres para avaliação, conforme descritos a seguir:

5.1 Fase 1 – Confinamento dos animais

Foram utilizados 96 bovinos, Nelore, machos, castrados, com peso médio inicial de $380 \pm 15,4$ kg e idade média de 24 meses.

Os animais foram alojados em dois confinamentos experimentais de acordo com o peso inicial, sendo que um grupo de 48 animais foi distribuído em quatro baias contendo portões eletrônicos (American Calan Inc., Northwood, NH, USA), Figura 1, que permitiram o controle individual da alimentação, enquanto o restante (n=48) foi alojado em baias individuais (Figura 2). Os animais foram submetidos a um período de adaptação às dietas de 21 dias.

Os animais foram alimentados com dietas contendo 82% de concentrado e 18% de volumoso, contendo fontes de óleo vegetal (Tabela 2) nas dietas: CON: dieta controle sem adição de óleo; SOJ – dieta com óleo de soja; LIN – dieta com óleo de linhaça; GIR: dieta com óleo de girassol. Os óleos foram incluídos na proporção de 3,5% na matéria seca, em substituição ao milho grão moído.

Figura 1 - Animais nas baias com portões eletrônicos



Fonte: Própria autoria

Figura 2 - Animais nas baias individuais



Fonte: Própria autoria

Tabela 2 - Composição percentual das dietas (na matéria seca)

INGREDIENTE, %MS¹	Controle	Girassol	Soja	Linhaça
Silagem de milho	21,78	21,78	21,78	21,78
Polpa cítrica peletizada	11,03	11,03	11,03	11,03
Milho grão moído	53,82	50,32	50,32	50,32
Óleo vegetal	0,00	3,50	3,50	3,50
Farelo de soja	10,79	10,79	10,79	10,79
Ureia	0,78	0,78	0,78	0,78
Sal mineral ²	0,80	0,80	0,80	0,80
Calcário calcítico	1,00	1,00	1,00	1,00
NUTRIENTE³				
Proteína Bruta, %	16,59	15,22	15,58	17,98
Extrato Etéreo, %	3,46	6,90	6,62	6,80
Fibra em detergente ácido, %	15,23	15,95	15,74	15,83
Fibra em detergente neutro, %	27,55	26,99	28,65	23,89
Matéria Seca, %	62,88	65,92	66,07	65,93
Matéria Mineral, %	4,75	5,06	4,80	5,49

¹Estimado pelo programa Ração de lucro máximo (RLM) ESALQ-USP; ²NC BEEF PERFORMA (Nutron TMR50); ³Determinados a partir de análise bromatológica.

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, no período da manhã e da tarde e as sobras foram colhidas e pesadas três vezes por semana, para o ajuste de 10% do alimento oferecido, no próximo dia após a retirada das sobras.

5.2 Fase 2 – Abate e preparo dos hambúrgueres

Após 82 dias de confinamento os animais foram abatidos de acordo com os padrões do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), em abatedouro comercial, sob Inspeção Federal, localizado na cidade de Ibitinga/SP.

Após o abate, as carcaças foram resfriadas (0 - 2°C), por 48 horas (Figura 3). Em seguida, as mesmas foram desossadas, quando então foram retiradas amostras do músculo *Longissimus* de cada animal e amostras de gordura subcutânea na mesma região de todos os animais. As amostras foram então agrupadas por tratamento para o preparo de hambúrgueres.

As amostras de carne e gordura foram moídas separadamente em moedor industrial (Frigmann Hermann, Brasil) usando disco de 4 mm no Abatedouro Escola da Universidade de São Paulo (USP), em Pirassununga/SP. Em seguida as amostras e os ingredientes utilizados na formulação (Tabela 3) foram pesados individualmente por meio de balança digital, então todos os itens foram homogeneizados manualmente.

Figura 3 - Carcaças na câmara frigorífica



Fonte: Própria autoria

Tabela 3 - Composição dos hambúrgueres

INGREDIENTE	%
Carne bovina	85,4
Gordura bovina	12,0
Sal	2,0
Alho em pasta	0,3
Polifosfato de sódio	0,3

Após a homogeneização das amostras, foram produzidos 250 hambúrgueres por tratamento (total de 1.000 hambúrgueres). Os mesmos foram moldados com aproximadamente 100 g cada (Figuras 4 e 5) em uma hamburgueira manual (Modelo HP 112, Marca Picelli) e embalados em embalagens de polietileno permeáveis ao oxigênio (Figura 6) e congelados (-18°C).

Figura 4 - Pesagem das amostras



Fonte: Própria autoria

Figura 5 - Moldagem dos hambúrgueres



Fonte: Própria autoria

Figura 6 - Hambúrguer embalado



Fonte: Própria autoria

5.3 Tempo de armazenamento

Metade dos hambúrgueres de cada tratamento (n=125 hambúrgueres por tratamento) foi mantida congelada (-18°C) por 90 dias (tempo 90), enquanto a outra metade foi analisada imediatamente após o congelamento (tempo zero).

5.4 Modo de preparo

Os hambúrgueres foram analisados, crus ou grelhados, para ambos os períodos de armazenamento.

Os hambúrgueres foram grelhados a 170°C, em chapa “George Foreman” modelo GD2011B, por dois minutos de cada lado, até atingir um tempo total de oito minutos, monitorados por um cronômetro digital. Cada lado foi grelhado por quatro minutos conforme descrito por Baggio (2004).

5.5 Composição de Ácidos Graxos dos hambúrgueres

Para a determinação do perfil de ácidos graxos foram utilizados aproximadamente 2,8g de amostra de cada hambúrguer para as amostras que não foram armazenadas e para as amostras armazenadas em 90 dias e para as amostras cruas e grelhadas. As amostras foram homogeneizadas e transferidas para um tubo Falcon de 50 mL. A extração foi realizada pelo método de Folch, Less e Stanley (1957). Os lipídeos foram extraídos por homogeneização da amostra com uma solução de clorofórmio e metanol 2:1 em homogeneizador Ultra Turrax (Marconi®). Em seguida, os lipídeos foram isolados após a adição de solução de NaCl a 1,5%.

A gordura separada foi metilada e os ésteres metílicos foram formados de acordo com Kramer et al. (1997). Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (CG-2010 Plus - Shimadzu, auto injetor AOC 20i), usando coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). A temperatura inicial foi de 45°C, com aquecimento progressivo até chegar a 175°C, mantendo-se por 27 minutos. Em seguida, um novo aumento de 4°C/minuto foi iniciado até 215°C, mantendo-se durante 35 minutos. Foi utilizado Hidrogênio (H₂) como gás de arraste com fluxo de 40 cm³/s.

Os ácidos graxos foram identificados de acordo com o tempo de retenção dos ésteres de metil das amostras com os padrões 463 Nu-Chek®, ácido vacênico C18:1 trans-11 (V038-

1G, Sigma[®]), C18:2 trans-10 cis-12 (UC-61M 100mg), CLA e C18:2 cis-9, trans-11 (UC-60M 100mg), (Sigma[®]) e ácido tricosanóico (Sigma[®]). Os ácidos graxos foram quantificados por normalização da área dos picos dos ésteres de metil, com uso do *Software* GS solution 2.42. Os ácidos graxos foram expressos em porcentagem do total de metil éster quantificado. As análises foram realizadas no Laboratório de Ciência da Carne na FMVZ/USP, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

5.6 Determinação das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

As substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas em cinco gramas de amostras de hambúrguer para os tempos de armazenamento zero e 90 dias e para os hambúrgueres crus e grelhados segundo metodologia descrita por Vyncke (1975). Cinco gramas de amostras de hambúrgueres foram adicionados a 15 mL de ácido tricloroacético 7,5% (TCA) e posteriormente homogeneizados por 60 segundos em homogeneizador Ultra Turrax disperser (IKA[®], T10 basic). Em seguida, o homogeneizado foi filtrado em papel filtro de 125 mm nº1 (Whatman[®]). Foi transferido 3 mL do filtrado, em duplicata, para um tubo de ensaio com tampa de rosca, onde foi adicionado 3 mL de ácido tiobarbitúrico 0,02M (TBA) e em seguida todos os tubos foram fechados e agitados em vortex (IKA[®], lab dancer).

Para o preparo dos pontos da curva analítica utilizou-se uma solução de trabalho, preparada pela transferência de 0,2218g de 1,1,3,3 Tetraetoxipropano (TEP) para balão volumétrico de 100 mL completando-se o volume com água destilada (Solução A). Foi transferido 1 mL dessa solução para outro balão volumétrico de 100 mL (Solução B), completando-se com água destilada e foi transferido 10 mL da solução B para um balão volumétrico de 100 mL e completando-o com água destilada (Solução C).

Assim pode ser elaborado oito tubos de ensaio mais o branco por meio da transferência de alíquotas de solução TEP, solução TCA e solução de TBA. A utilização da solução de TBA 0,02M foi constante (3 mL) em todos os tubos, TCA 7,5% diminuindo de 3 mL (tubo branco) a zero enquanto que a solução C TEP foi aumentando nos tubos a partir de zero no tubo branco a 3 mL no tubo 8.

Os tubos (amostra e pontos da curva de analítica) foram fechados, agitados em vortex (IKA[®], lab dancer) e as tampas dos tubos foram levemente desrosqueadas, devido à formação de gás, e incubados em banho-maria (Marconi[®], MA127) a 100 °C por 40 minutos para o desenvolvimento da cor. Após resfriamento em gelo por dois minutos para cessar a reação, as

amostras foram novamente agitadas em vórtex para remoção de bolhas e a absorbância foi lida em espectrofotômetro (Biospectro[®], SP-22) em 538nm e em 600 nm. Os resultados obtidos de acordo com as diferentes concentrações de TEP foram plotados em gráfico de dispersão, com regressão linear, obtendo-se assim a equação de uma reta. A partir da mesma, foi calculada os valores das substâncias reativas ao TBA, com resultado expresso em mg MDA/kg de amostra. As análises foram realizadas no Laboratório de Avaliação Animal e Qualidade da Carne na FZEA/USP, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

5.7 Colesterol e Óxidos de Colesterol

Foi utilizado um grama de hambúrguer para a extração simultânea de colesterol e óxidos de colesterol nos hambúrgueres crus e grelhados (das amostras que não foram armazenadas e para as amostras armazenadas durante 90 dias). Adicionou-se 4 mL de solução de KOH 20% e 6 mL de álcool etílico absoluto e um agitador magnético no frasco. Todos os frascos foram tampados hermeticamente, recobertos por papel alumínio para isenção total de luz e permaneceram em mesa agitadora por 12 horas.

Após a agitação as amostras foram transferidas para um tubo de ensaio de vidro e seguiram-se as seguintes etapas: Etapa 1 - Adição de 3 mL de água destilada, 5 mL de solução KOH 0,5M e 10 mL de hexano P.A., agitação no vórtex (Phoenix[®], AP 56) por cinco minutos para que ocorresse a separação das fases não-saponificável (sobrenadante) e saponificável, o sobrenadante foi transferido para outro tubo.

Na etapa 2 seguiu-se os mesmos passos da etapa 1, então na etapa 3 o sobrenadante transferido para os tubos foi adicionado 10 mL de hexano e 3 mL de água (caso não ocorresse a separação das fases). Após essa etapa o sobrenadante foi filtrado em papel filtro com 4 g de sulfato anidro. O filtrado então foi evaporado utilizando N₂ e os tubos foram armazenados em freezer -20°C até o momento da realização da leitura das amostras em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com o método descrito por Mazalli et al. (2006).

Utilizou-se um cromatógrafo líquido (Shimadzu[®]) equipado com sistema ternário de solventes (LC-10 ADVP) e detector UV-Visível (SPD -10 AVVP). A coluna analítica usada foi Nova Pack CN HP, 300 mm x 3,9 mm x 4 µm (Waters, Milford, MA, USA) e a temperatura foi fixada a 32 °C. A fase móvel constituiu-se de n-hexano:álcool isopropil (96:4), na vazão de 1 mL/min, sendo o tempo de análise 20 minutos, foi usada para separar o colesterol do óxido 7 cetocolesterol.

Utilizou-se os padrões 5-cholesten-3B-OL-7-ONE (Sigma[®]) e Cholesterol Sigma grade

(Sigma[®]) para a identificação do óxido de colesterol e do colesterol.

Os solventes utilizados foram grau cromatográfico, filtrados e degaseificados em ultrassom antes do uso. Os cromatogramas foram processados a 210nm. A identificação dos picos de colesterol e de óxido de colesterol foi realizada por meio de comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras com o padrão e por cromatografia. A quantificação foi feita por padronização externa, sendo as curvas padrão construídas com 6 pontos utilizando soluções dos padrões com concentrações que variam de 1 a 100 µg/mL para óxidos e de 2 a 2,5 mg/mL para colesterol. As análises de extração foram realizadas no Laboratório de Ciência da Carne na FMVZ/USP, Pirassununga, São Paulo, Brasil e as leituras foram realizadas no Laboratório de Processos de Engenharia de Alimentos na FZEA/USP, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

5.8 Análise Sensorial

As amostras de hambúrgueres grelhados não armazenados e armazenados por 90 dias, foram avaliadas em painel sensorial não-treinado, formado por 100 consumidores nos tempos zero e mais 100 consumidores no tempo 90, selecionados ao acaso de acordo com o interesse na participação do teste. Os hambúrgueres foram disponibilizados aos consumidores após serem grelhados em chapa a 170°C, por dois minutos de cada lado, até atingir um tempo total de oito minutos, monitorados por um cronômetro digital. Cada lado foi grelhado por 4 minutos conforme descrito por Baggio (2004) e instruções contidas em embalagens comerciais.

As avaliações foram realizadas em cabines individuais com luz vermelha (Figura 7). Para avaliação sensorial foi realizado o teste de aceitação com escala hedônica de 9 pontos (9 = gostei muitíssimo, 1 = desgostei muitíssimo) de acordo com Stone e Sidel (2012) e de acordo com a ficha de avaliação em anexo (Anexo B). Foi verificada a preferência dos consumidores para os atributos, aroma, textura, suculência, sabor e aceitabilidade global do produto testado (DE SOUZA TAVARES, 2007).

Foram disponibilizadas de forma monádica sequencial quatro amostras aos provadores (uma de cada tratamento) de maneira aleatorizada (Figura 8). Cada amostra era composta de 1/6 de hambúrguer (aproximadamente 16 a 17 g cada amostra) em copos plásticos, codificados com números de três dígitos, em ordem aleatória, acompanhados de um copo de água e biscoito tipo água e sal para ser utilizado pelo provador entre as amostras, para limpeza das papilas gustativas. Cada participante assinou o termo de Consentimento Livre e

Esclarecido conforme Anexo C. A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da FZEA/USP.

Figura 7 - Imagem das cabines do Laboratório de análise sensorial



Fonte: Própria autoria

Figura 8 – Imagem do atendimento aos consumidores durante a realização do teste



Fonte: Própria autoria

5.9 Análise estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado para todas as características avaliadas. O efeito dos tratamentos sobre os dados de TBARS, colesterol e perfil de ácidos graxos, foi avaliado por análise de variância, considerando um arranjo fatorial $4 \times 2 \times 2$ (fontes de óleo x tempo de armazenamento x modo de preparo), com 20 repetições por tratamento. Os fatores individuais, bem como as interações de primeira e segunda ordem foram considerados como efeitos fixos no modelo. Para as análises sensoriais, foi utilizado um arranjo fatorial 4×2 (fontes de óleo x tempo de armazenamento), considerando os fatores principais e a interação entre ambos como efeitos fixos. O provador foi utilizado como efeito aleatório. As amostras foram avaliadas por 100 provadores em cada tempo de armazenamento.

As análises foram realizadas utilizando o procedimento *Mixed* do *software* SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC). Quando foi observado efeito significativo dos tratamentos, os mesmos foram comparados pelo teste T de Student.

Uma vez que, muitas amostras apresentaram concentração zero de óxidos de colesterol, essa variável foi analisada como binomial, presença (2) ou ausência (1) de óxidos de colesterol do hambúrguer, usando um modelo não-linear utilizando o procedimento GENMOD do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC), assumindo uma distribuição binomial e

aplicando uma função de ligação probit. O modelo incluiu os efeitos fixos da fonte de óleo (controle, girassol, soja ou linhaça), tempo de armazenamento (0 ou 90 dias) e modo de preparo (cru ou grelhado) bem como as interações entre os mesmos. As médias foram comparadas aplicando o teste do qui-quadrado Wald. Foi apresentada a frequência de presença de óxidos de colesterol no total de amostras analisado.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Composição de ácidos graxos

Foi observada uma interação tripla entre as fontes de óleo, tempo de armazenamento e modo de preparo para a maioria dos ácidos graxos avaliados ($P < 0,05$) e, em função disso, foi feito o desdobramento da interação para todos os ácidos graxos.

Em relação às amostras cruas, foi observada maior porcentagem de C14:0, da mesma forma que foi observado no total de AGS nos tratamentos GIR e SOJ em relação aos demais, também foi observado maiores valores de C18:0 para o tratamento GIR enquanto que para o ácido graxo C16:0 não foi observada diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$; Tabela 4). Tanto para o C14:0 e C18:0 quanto para o total de AGS o tratamento LIN apresentou menores porcentagens quando comparados entre os tratamentos com inclusão de óleo.

Os valores de AGS observados neste estudo, independente dos tratamentos, foram inferiores aos observados por Baggio (2004), que relatou média de 47% de AGS, em cinco diferentes marcas comerciais de hambúrgueres. Visto que as recomendações são para a redução da ingestão de ácidos graxos saturados, o tratamento com a inclusão de óleo de linhaça foi eficiente em reduzi-los, tanto nos hambúrgueres crus quanto grelhados, quando comparado com as outras fontes de óleo e com o tratamento sem adição de óleo. De acordo com estudos o AG mirístico (C14:0) é considerado hipercolesterolêmico, sendo o mais indesejável dentre os ácidos graxos saturados (FRENCH et al., 2003; RIOUX; LEMARCHAL; LEGRAND, 2000). Todos os tratamentos contendo óleo foram superiores ao tratamento controle para o AG mirístico, mas dentre eles o tratamento contendo óleo de linhaça foi o menor para os hambúrgueres crus, esses valores foram próximos aos encontrados por Souza et al. (2007), em estudo com carnes de novilhas alimentadas com grãos de linhaça, em que os autores encontraram 2,80% para o grupo controle e 2,82% para o tratamento linhaça.

Vale ressaltar que não foram encontrados estudos com a utilização de hambúrgueres ou processados cárneos bovinos com carne proveniente de animais alimentados com fontes de óleos vegetais que avaliaram o perfil de ácidos graxos para a comparação, assim utilizou-se trabalhos que avaliaram a carne bovina. Foram observados por Souza et al. (2007), valores similares do AG C18:0, em amostras de carne de novilhas para o tratamento controle (15,06%) e para o tratamento linhaça (15,18%). Deve-se ressaltar, no entanto, que, embora apresente cadeia saturada de carbono, o ácido esteárico (C18:0) não eleva a colesterolemia

(KEYS; ANDERSON; GRANDE, 1965). Valores superiores de C16:0 foram encontrados em estudo com a inclusão de grãos de linhaça e canola, sobre a composição de AG do músculo *Longissimus* de novilhas confinadas, com médias de 26,37% para o grupo controle, 26% para o grupo com inclusão de grãos de linhaça e 26,08% para tratamento contendo óleo de canola (SOUZA et. al., 2007).

Tabela 4 – Médias em composição percentual e erro padrão da média dos ácidos graxos de hambúrgueres crus e grelhados e dos tratamentos (Controle, Girassol, Linhaça e Soja)

Ácido Graxo	Cru					Grelhado				
	CON	GIR	LIN	SOJ	EPM	CON	GIR	LIN	SOJ	EPM
C9:0	-	<0,01	0,01	0,03	0,01	0,05	-	<0,01	-	0,01
C10:0	<0,01	0,02	<0,01	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01
C11:0	-	-	-	<0,01	<0,01	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C12:0	-	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01
C14:0	2,82 ^{ca}	3,51 ^{aA}	3,31 ^{bA}	3,42 ^{abA}	0,05	2,79 ^{bA}	3,13 ^{ab}	3,08 ^{ab}	3,16 ^{ab}	0,05
C14:1 c9	0,85 ^{ca}	0,91 ^{bA}	1,15 ^{aA}	0,95 ^{bA}	0,02	0,87 ^{bA}	0,84 ^{bB}	1,10 ^{aA}	0,89 ^{bA}	0,02
C15:0	0,33 ^{ab}	0,36 ^a	0,33 ^{ab}	0,29 ^b	0,01	0,33 ^a	0,34 ^a	0,33 ^a	0,30 ^a	0,01
C15:1 c10	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C16:0	23,38 ^A	23,37 ^A	23,37 ^A	23,70 ^A	0,12	23,25 ^{bA}	22,69 ^{cb}	22,86 ^{cb}	23,77 ^{aA}	0,12
C16:1 c9	3,22 ^{bB}	2,18 ^{cb}	3,78 ^{ab}	3,40 ^{bA}	0,08	3,49 ^{bA}	3,04 ^{ca}	3,82 ^{aA}	3,27 ^{bcA}	0,08
C16:1 t9	0,24 ^{aA}	0,27 ^{aA}	0,23 ^{ab}	0,23 ^{aA}	0,01	0,25 ^{bA}	0,24 ^{bA}	0,28 ^{aA}	0,23 ^{bA}	0,01
C17:0	1,08 ^{aA}	0,95 ^{bA}	0,88 ^{dA}	0,91 ^{ca}	<0,01	1,06 ^{ab}	0,92 ^{bB}	0,85 ^{cb}	0,92 ^{bA}	<0,01
C17:1 c10	0,82 ^{ab}	0,60 ^{cb}	0,66 ^{bA}	0,69 ^{bA}	0,01	0,87 ^{aA}	0,67 ^{ca}	0,69 ^{bcA}	0,72 ^{bA}	0,01
C17:1 t10	0,47 ^{ab}	0,24 ^{bB}	0,43 ^{ab}	0,46 ^{ab}	0,04	0,58 ^{aA}	0,50 ^{aA}	0,57 ^{aA}	0,57 ^{aA}	0,04
C18:0	15,18 ^{bA}	15,72 ^{aA}	13,59 ^{dA}	14,45 ^{cb}	0,12	14,88 ^{bA}	15,28 ^{ab}	13,14 ^{cb}	14,82 ^{bA}	0,12
C18:1 c6	0,13 ^{ca}	0,40 ^{aA}	0,31 ^{bA}	0,29 ^{bA}	0,02	0,10 ^{bA}	0,32 ^{ab}	0,35 ^{aA}	0,29 ^{aA}	0,02
C18:1 c11	1,27 ^{bA}	1,00 ^{cb}	1,37 ^{aA}	1,22 ^{bA}	0,04	1,03 ^{cb}	1,28 ^{bA}	1,42 ^{aA}	1,27 ^{bA}	0,04
C18:1 n9	0,16 ^{bA}	0,34 ^{ab}	0,28 ^{ab}	0,29 ^{ab}	0,02	0,17 ^{ca}	0,46 ^{aA}	0,37 ^{bA}	0,39 ^{bA}	0,02
C18:1 t11	0,98 ^{ca}	1,90 ^{bB}	2,29 ^{aA}	2,34 ^{aA}	0,03	0,75 ^{cb}	2,08 ^{bA}	2,20 ^{aA}	2,22 ^{ab}	0,03
C18:1 n9c	42,44 ^{aA}	38,65 ^{ca}	39,21 ^{bA}	38,35 ^{ca}	0,17	41,89 ^{ab}	38,88 ^{ca}	39,40 ^{bA}	38,19 ^{dA}	0,17
C18:2 n6c	2,00 ^{ca}	2,32 ^{bB}	2,20 ^{bB}	2,54 ^{ab}	0,06	2,12 ^{dA}	3,05 ^{aA}	2,48 ^{ca}	2,86 ^{bA}	0,06
C18:2 n6t	0,04 ^{dA}	0,09 ^{cb}	0,30 ^{ab}	0,20 ^{bB}	0,01	0,02 ^{ca}	0,15 ^{bA}	0,37 ^{aA}	0,16 ^{bA}	0,01

Continua... Tabela 4 – Médias em composição percentual e erro padrão da média dos ácidos graxos de hambúrgueres crus e grelhados e dos tratamentos (Controle, Girassol, Linhaça e Soja)

C18:3 n3	0,20 ^{bA}	0,22 ^{bA}	0,49 ^{aB}	0,14 ^{cA}	0,01	0,18 ^{bA}	0,22 ^{bA}	0,62 ^{aA}	0,13 ^{cA}	0,01
CLA c9 t11	0,43 ^{cB}	0,66 ^{bA}	0,76 ^{aA}	0,74 ^{aA}	0,02	0,37 ^{cA}	0,66 ^{bA}	0,75 ^{aA}	0,72 ^{abA}	0,02
C19:0	0,05 ^{bA}	0,05 ^{bA}	0,16 ^{aB}	0,06 ^{bA}	0,01	0,05 ^{bcA}	0,07 ^{bA}	0,21 ^{aA}	<0,01 ^{cB}	0,01
C20:0	0,03 ^{aB}	0,02 ^{aA}	0,02 ^{aB}	0,02 ^{aA}	<0,01	<0,01 ^{bcA}	0,02 ^{bA}	0,04 ^{aA}	<0,01 ^{cB}	<0,01
C20:1 c8	-	-	-	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C20:1 c11	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,04 ^a	<0,01	0,02 ^b	0,08 ^a	0,02 ^b	-	<0,01
C20:2 n6	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	-	<0,01	<0,01
C20:3 n6 c8 11 14	0,03 ^{aA}	0,04 ^{aB}	0,04 ^{aB}	0,05 ^{aA}	0,01	0,06 ^{bcA}	0,10 ^{aA}	0,09 ^{abA}	0,03 ^{cA}	0,01
C20:4 n6	0,31 ^{aB}	0,20 ^{bB}	0,30 ^{aA}	0,31 ^{aB}	0,02	0,44 ^{aA}	0,37 ^{bcA}	0,35 ^{cA}	0,42 ^{abA}	0,02
C20:5 n3	<0,01 ^{bA}	<0,01 ^{bA}	0,16 ^{aA}	0,04 ^{bA}	0,03	<0,01 ^{aA}	0,02 ^{aA}	0,04 ^{aB}	0,05 ^{aA}	0,03
C21:0	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	-	<0,01
C22:0	-	<0,01	-	-	<0,01	0,01	<0,01	-	-	<0,01
C22:2 n6	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	-	<0,01	-	-	<0,01
C22:3 n3	0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,01	0,04	<0,01	<0,01	<0,01	0,01
C22:4 n6	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01	-	0,01	-	<0,01	<0,01
C22:5 n3	0,05 ^{aB}	0,03 ^{aB}	0,05 ^{aB}	0,04 ^{aA}	0,01	0,12 ^{abA}	0,10 ^{bA}	0,13 ^{aA}	0,03 ^{cA}	0,01
C22:6 n3	-	-	<0,01	-	<0,01	-	-	-	<0,01	<0,01
C23:0	<0,01	<0,01	0,09	0,06	0,05	0,13	<0,01	<0,01	<0,01	0,05
C24:0	0,01	-	-	0,01	0,02	<0,01	0,07	0,07	0,01	<0,01
Totais e relações										
AGS	42,87 ^{bA}	44,03 ^{aA}	40,77 ^{cA}	42,96 ^{abA}	0,41	42,59 ^{aA}	42,47 ^{aB}	40,52 ^{bA}	42,99 ^{aA}	0,41
AGMI	50,61 ^{aA}	46,52 ^{cB}	48,50 ^{bB}	48,26 ^{bA}	0,48	50,03 ^{aA}	48,41 ^{bA}	50,22 ^{aA}	48,03 ^{bA}	0,48
AGPI	3,10 ^{cA}	3,57 ^{bB}	4,20 ^{aB}	4,09 ^{aB}	0,11	3,39 ^{cA}	4,70 ^{abA}	4,83 ^{aA}	4,41 ^{bA}	0,11
Não identificados	3,42 ^b	5,88 ^a	6,52 ^a	4,69 ^{ab}	0,86	3,98 ^a	4,41 ^a	4,44 ^a	4,56 ^a	0,86
AGPI:AGS	0,07 ^{dB}	0,08 ^{cB}	0,10 ^{aB}	0,09 ^{bB}	<0,01	0,08 ^{dA}	0,11 ^{bA}	0,12 ^{aA}	0,10 ^{cA}	<0,01

Conclusão... Tabela 4 – Médias em composição percentual e erro padrão da média dos ácidos graxos de hambúrgueres crus e grelhados e dos tratamentos (Controle, Girassol, Linhaça e Soja)

n6	2,38 ^{cB}	2,66 ^{bB}	2,76 ^{bB}	3,10 ^{aB}	0,08	2,64 ^{cA}	3,70 ^{aA}	3,29 ^{bA}	3,48 ^{abA}	0,08
n3	0,26 ^b	0,25 ^b	0,70 ^a	0,24 ^b	0,04	0,34 ^b	0,34 ^b	0,79 ^a	0,22 ^c	0,04
n6:n3	7,25 ^{bA}	10,02 ^{aA}	4,88 ^{cA}	10,60 ^{aB}	0,38	6,91 ^{cA}	10,83 ^{bA}	4,42 ^{dA}	12,30 ^{aA}	0,40

*CON: Animais tratados sem a adição de óleo na dieta; GIR: Animais tratados com adição de óleo de girassol na dieta; LIN: Animais tratados com adição de óleo de linhaça na dieta; SOJ: Animais tratados com adição de óleo de soja na dieta; AGS: somatória dos ácidos graxos saturados (C9:0 + C10:0 + C11:0 + C12:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C19:0 + C20:0 + C21:0 + C22:0 + C23:0 + C24:0); AGMI: somatória dos ácidos graxos mono insaturados (C14:1 c9 + C15:1 c10 + C16:1 c9 + C16:1 t9 + C17:1 c10 + C17:1 t10 + C18:1 c6 + C18:1 c11 + C18:1 n9 + C18:1 t11 + C18:1 n9c + C20:1 c8 + C20:1 c11); AGPI: somatória dos ácidos graxos polinsaturados (C18:2 n6c + C18:2 n6t + C18:3 n3 + CLA c9 t11 + C20:2 n6 + C20:3 n6 c8 11 14 + C20:4 n6 + C20:5 n3 + C22:2 n6 + C22:3 n3 + C22:4 n6 + C22:5 n3 + C22:6 n3); CLA: ácido linoleico conjugado; n6: ômega 6 (C18:2 n6c + C18:2 n6t + C20:2 n6 + C20:3 n6 c8 11 14 + C20:4 n6 + C22:2 n6 + C22:4 n6); n3: ômega 3 (C18:3 n3 + C20:5 n3 + C22:3 n3 + C22:5 n3 + C22:6 n3); - sem identificação do ácido graxo.

^{a,b} Valores com letras minúsculas diferentes dentro do modo de preparo na mesma linha, diferem entre si pelo teste de T de Student (P<0,05).

^{A,B} Valores com letras maiúsculas diferentes dentro de tratamento na mesma linha, diferem entre si pelo teste de T de Student (P<0,05).

Nos hambúrgueres crus, o tratamento CON apresentou maiores valores de AGMI (50,61%), em relação ao LIN (48,50%), SOJ (48,26%) e GIR (46,52%). Os tratamentos LIN e SOJ não diferiram entre si. Souza et al. (2007) também obtiveram resultados semelhantes para os AGMI em amostras sem adição de óleo (50,33%) e 50,38% nas amostras de *Longissimus* de novilhas alimentadas com grãos de linhaça.

Nos hambúrgueres crus, foram observados maiores valores de AGPI para LIN e SOJ (4,20 e 4,09%, respectivamente). Também verificou-se o mesmo comportamento para o CLA c9t11 (LIN 0,76% e SOJ 0,74%), enquanto que o C18:2 n6c apresentou maiores porcentagens para o tratamento SOJ. As amostras de animais alimentados com LIN tiveram maiores porcentagens de C18:3 n3. Pode ser observado também que os AG C18:2 n6c, C18:2 n6t, CLA c9 t11 e total AGPI, dos tratamentos contendo óleo apresentaram porcentagens superiores, em relação ao tratamento sem adição de óleo. Os AG linoleico (C18:2 n6c) e linolênico (C18:3 n3) são ácidos graxos polinsaturados, essenciais na dieta humana e estes podem estar associados com a prevenção de doenças cardiovasculares. Estes AG são abundantemente encontrados em fontes de óleos vegetais, podendo ter sua concentração aumentada na carne em função da disponibilização de dietas ricas em óleos ou sementes oleaginosas (DEMEYER; DOREAU, 1999).

Além disso, os hambúrgueres provenientes dos animais alimentados com LIN resultaram em maiores proporções de C18:3 n3, em relação aos demais, que é totalmente justificável visto que o óleo de linhaça é rico em AG linolênico (MOSHKIN, 1986; NRC, 2001; PAULA; MAIA; CHEN, 2012), tendo assim incorporado à carne/gordura do animal e conseqüentemente ao processado cárneo no presente estudo, tanto para as amostras cruas (0,49%) quanto para as amostras grelhadas (0,62%). Portanto, a utilização dos óleos LIN, SOJ e GIR nas dietas para bovinos propiciou a incorporação principalmente dos AGPI nos hambúrgueres.

A relação AGPI:AGS foi melhor em hambúrgueres crus provenientes do tratamento LIN (0,10) em relação ao SOJ (0,09), GIR (0,08) e CON (0,07). Todos os tratamentos foram diferentes entre si ($P < 0,05$). Valores semelhantes foram encontrados em estudo de Souza et al. (2007), com 0,10 para o tratamento com grãos de linhaça e 0,10 para o tratamento controle.

Visto que o *Department of Health* (1994) recomenda relação AGPI:AGS maior que 0,45 para que uma dieta diária se torne mais saudável, no presente estudo, todas as dietas contendo inclusão dos óleos estão mais próximos a esta recomendação em comparação ao tratamento controle, sendo portanto indicados. A LIN e SOJ resultaram em maiores porcentagens de CLA c9 t11 independente do tratamento térmico, quando comparadas com

CON. Os valores encontrados no trabalho (CON: 0,43%, GIR: 0,66%, LIN: 0,76% e SOJ: 0,74%) para os hambúrgueres crus foram maiores daqueles verificados por Souza et al. (2007) (Controle: 0,28%, Linhaça: 0,33% e Canola: 0,24%) e por Scheeder et al. (2001) trabalhando com carne bovina de touros alimentados com fontes de óleo (Controle: 0,45%, Gordura protegida: 0,43%, Óleo de coco: 0,38%, Canola: 0,40%, Sementes de girassol: 0,66% e Linhaça: 0,49%).

Verificou-se maiores porcentagens de n6, em hambúrgueres crus, do tratamento SOJ (3,10%). No entanto, para o total de n3, foram observadas maiores proporções para os hambúrgueres de bovinos que receberam LIN (0,70%), enquanto que os tratamentos SOJ e GIR resultaram em maior relação n6:n3 (10,60 e 10,02), respectivamente, em relação ao CON (7,25) e LIN (4,88). Os grupos SOJ e GIR não diferiram entre si, quando testada a relação n6:n3 (P=0,281).

Os hambúrgueres provenientes do tratamento LIN apresentaram maiores porcentagens do total de n3, independente do preparo, podendo ser explicado pela alta porcentagem de C18:3 n3, presente no óleo de linhaça. O mesmo foi encontrado em estudo de Souza et al. (2007) utilizando grãos de linhaça sobre a composição do músculo *Longissimus* de novilhas para o tratamento contendo óleo de linhaça (0,97%) em comparação ao tratamento controle (0,90%) e o tratamento contendo canola (0,85%).

Segundo a *World Health Organization (WHO)/Food and Agriculture Organization (FAO)* (1994) a relação n6:n3 da dieta ideal deve ser no máximo 5:1 e 10:1 e segundo Martin et al. (2006) essa relação não pode ser inferior a 1:1 em dieta. Assim, os animais alimentados com adição de óleo de linhaça resultaram em uma relação mais favorável para a saúde dos consumidores. Em amostras de cinco diferentes marcas comerciais de hambúrgueres bovinos foi encontrada a razão média de 20,8:1 (BAGGIO, 2004). Em outro estudo de Baggio e Bragagnolo (2006) com amostras comerciais de hambúrgueres e almôndegas cruas e grelhadas, foram observados 22,6 para os hambúrgueres crus, 23,2 para os hambúrgueres grelhados, 17 para as almôndegas cruas e 16,6 para as almôndegas grelhadas para a relação n6:n3. Assim, pode-se concluir que hambúrgueres provenientes de bovinos que receberam óleos GIR, SOJ e LIN reduziram a relação n6:n3 ao comparar com hambúrgueres comerciais.

À medida que os hambúrgueres foram grelhados, provenientes dos tratamentos com inclusão dos óleos GIR, SOJ e LIN, houve redução dos AGS. Já para o tratamento CON, foi observada redução apenas do C17:0. O tratamento GIR proporcionou redução de C14:0, C16:0, C17:0, C18:0 e o total de AGS após os hambúrgueres serem grelhados. Houve redução dos valores de C14:0, C17:0, C16:0 e C18:0 para LIN. Houve redução no C14:0, C19:0 e

C20:0 para o tratamento SOJ. Contrariamente do que era esperado para os ácidos graxos saturados, houve aumento dos valores de C18:0 para o tratamento SOJ, C19:0 para o tratamento LIN e C20:0 para os tratamentos CON e LIN.

Rodriguez-Estrada et al (1997) não encontraram diferença para o total de AGS de hambúrgueres crus (49%) e grelhados (48,4%). A redução no total de AGS, após amostras serem grelhadas (48,74%) quando comparadas com amostras cruas (49,52%) também foi observada por Scheeder et al. (2001) em amostras de carne de bovinos, alimentados com gordura protegida, óleo de coco, canola, semente de girassol e linhaça, semelhante ao observado nos tratamentos GIR e LIN neste trabalho, esses autores também observaram redução no C14:0 (2,89%) para o método grelhado, em relação ao cru (2,97%), mencionando que a variação proporcional na composição de AG que pode ser explicada pela perda por gotejamento durante a cocção, que contém principalmente triglicerídeos do tecido adiposo, com relativamente mais AGS, quando comparados com AGI.

Scheeder et al. (2001) também encontraram redução de C16:0 para amostras de carne moída, provenientes de bovinos alimentados com fontes de óleo, 23,55 para 23,39%, no entanto, Baggio e Bragagnolo (2006) não relataram esta diferença. Por outro lado, Scheeder et al. (2001) encontraram redução nos valores de C18:0 em amostras de carne moída grelhadas (20,63%) em relação às amostras cruas (21,08%). Os dados deste trabalho também corroboram com Ramamurti (1986), que relataram redução dos AGS em carne moída bovina, após o cozimento.

Houve aumento dos valores de AGMI nas amostras cruas de GIR e LIN, enquanto que CON e SOJ não diferiram ($P=0,399$ e $P=0,743$) quando comparados com as amostras grelhadas. O AGMI não foi alterado após os hambúrgueres serem grelhados (47,9%), quando comparados com aqueles crus (47,9%) em estudo de Rodriguez-Estrada et al, (1997) e comportamento semelhante pode ser observado por Baggio; Bragagnolo, (2006) em amostras de hambúrgueres e almôndegas.

Houve aumento dos AGPI, ao serem grelhados os hambúrgueres, em especial, naqueles de animais tratados com adição de óleos vegetais. Houve aumento de CLA c9 t11 nos hambúrgueres do tratamento CON. O AG C20:4 n6, apresentou aumento no tratamento GIR. Observou-se aumento da porcentagem de C18:2 n6c, C18:2 n6t, C18:3 n3, C20:4 n6 e o total de AGPI após os hambúrgueres serem grelhados, para o tratamento LIN. Houve aumento dos valores de AG C18:2 n6c, C18:2 n6t, C20:4 n6 e o total de AGPI, após serem grelhados para o tratamento SOJ, também observado por Rodriguez-Estrada et al. (1997), ao comparar hambúrgueres bovinos crus e grelhados. Da mesma forma, Scheeder et al. (2001) observaram

o aumento AGPI, após grelhar as amostras de carne moída. Esses autores sugeriram que AGI são menos alterados pelo cozimento, devido o fato destes AG estarem localizados nas membranas de estruturas, quando comparados aos AGS.

Houve aumento dos valores da relação de AGPI:AGS após os hambúrgueres serem grelhados para todos os tratamentos LIN, SOJ, GIR e CON. Da mesma forma, Ono, Berry e Paroczay (1985) encontraram aumento da relação AGPI:AGS em amostras de carne moída bovina grelhadas quando comparadas às cruas.

Houve crescimento da porcentagem do n6 após os hambúrgueres serem grelhados, independente dos tratamentos, enquanto que para o total de n3 não foi observada diferença. O tratamento SOJ proporcionou maiores valores de n6:n3 nos hambúrgueres grelhados e os tratamentos GIR, CON e LIN não diferiram quando comparados com os hambúrgueres crus. Baggio e Bragagnolo, (2006) também não encontraram diferença na relação n6:n3 após as amostras de hambúrgueres bovinos e outros produtos cárneos serem grelhadas.

O comportamento entre os AGS comparados ao método grelhado não seguiu um padrão. O C14:0 apresentou-se com porcentagens mais elevadas nos tratamentos SOJ, GIR e LIN que não foram diferentes entre si. O C16:0 não foi diferente entre os tratamentos e observou-se maiores porcentagens de C18:0 para GIR, enquanto que os tratamentos SOJ, CON e LIN resultaram em maior total de AGS, valores inferiores aos encontrados por Baggio e Bragagnolo (2006) que relataram 48% de AGS. Já Scheeder et al. (2001) encontraram variação de 2,07% a 5,40% para C14:0 em amostras de carne moída bovina grelhadas. Em estudos, observou-se que o C16:0 eleva a concentração de colesterol e de LDL-colesterol, quando comparado aos AGPI (HAUTRIVE; MARQUES; KUBOTA, 2012; LOTTENBERG, 2009; NICOLOSI et al., 1990). Contudo, Scheeder et al. (2001) relataram diferenças nos grupos controle (26,3%), adição de óleo de coco (26,3%), gordura protegida (25,6%) que foram maiores que os tratamentos com semente de girassol (20,8%), canola (20,7%) e linhaça (20,6%). Deve-se ressaltar, no entanto, que embora apresente cadeia saturada de carbono, o ácido esteárico (C18:0) não eleva a colesterolemia (KEYS; ANDERSON; GRANDE, 1965), pois o mesmo é rapidamente convertido à ácido graxo oleico (C18:3 n6) no fígado, apresentando assim efeito neutro.

Em relação aos hambúrgueres grelhados, foram observados maiores porcentagens de AGMI para CON (50,03%) e LIN (50,22%), quando comparados ao GIR (48,41%) e SOJ (48,03%). CON e LIN não diferiram entre si (P=0,789). GIR e SOJ também não diferiram entre si (P=0,578). Também foi verificado que o AGPI foi mais elevado em LIN e GIR (4,83 e 4,70%, respectivamente). Para o C18:2 n6c foi observado maiores porcentagens no

tratamento GIR, para o C18:2 n6t, C18:3 n3 e CLA c9 t11 foi observado maiores valores no tratamento LIN. Scheeder et al. (2001), encontraram valores aproximados ao deste estudo de AGPI para amostras de carnes bovinas grelhadas (4,91%). Rodriguez-Estrada et al. (1997) encontram valores aproximadamente de 3,60% de AGPI para hambúrgueres bovinos grelhados.

Após os hambúrgueres serem grelhados, foram observados maiores valores da relação de AGPI:AGS para LIN (0,12), quando comparados a GIR (0,11), SOJ (0,10) e CON (0,08). Todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,05$). Os tratamentos com fontes de óleo foram numericamente superiores ao tratamento CON, visto então que a inclusão de óleos nas dietas estão de acordo com os valores (0,10-0,15) recomendados por Scollan et al. (2006).

Foram observados maiores porcentagens de n6 para GIR (3,70%) e SOJ (3,48%), enquanto foram verificados maiores porcentagens de n3 para LIN (0,79%) nos hambúrgueres grelhados. Em adição, a relação de n6:n3 foi mais elevada nos hambúrgueres de bovinos tratados com SOJ (12,30) quando comparados ao GIR (10,83), CON (6,91) e LIN (4,42). Todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,05$). Os hambúrgueres de bovinos que receberam linhaça apresentou-se como o mais ideal para a relação n6:n3 de acordo com o preconizado por *World Health Organization (WHO)/Food and Agriculture Organization (FAO)* (1994) para uma dieta saudável. Apesar de não relatarem diferença entre os tratamentos para os valores de n3, Souza et al. (2007) observaram mais n3 para o tratamento com adição de grãos de linhaça (0,97%) quando comparado ao controle (0,90%) e o tratamento com adição de grãos de canola (0,85%) de carnes bovina e a relação de n6:n3 foi numericamente inferior para o tratamento linhaça (3,36%) corroborando com os valores encontrados nesse trabalho.

Nos hambúrgueres relacionados ao tempo zero de armazenamento, foi observada maiores proporções de C15:0 e C18:0 para GIR. O tratamento SOJ resultou em hambúrgueres com maior teor de C14:0. As dietas CON e SOJ proporcionaram maior porcentagem de C16:0, enquanto que os tratamentos CON (42,55%), GIR (42,51%) e SOJ (42,21%) levaram a um aumento no total de AGS, em relação a LIN (39,47%) e os tratamentos CON, GIR e SOJ não diferiram entre si ($P < 0,05$). O total de AGS foi menor nas amostras do tratamento LIN, assim como os C16:0, C17:0 e C18:0 (Tabela 5).

Visto que o C14:0 eleva os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol) (DE LIMA et al., 2000), todas as amostras contendo óleo nesse trabalho, apresentaram valores superiores de C14:0, independente do período de armazenamento, portanto, não seria eficiente o uso dos óleos GIR, LIN e SOJ na alimentação de bovinos, a fim de reduzir teores desse AG em produtos processados. Fernandes et al. (2009) não observaram

diferenças para o C14:0 entre amostras do músculo *Longissimus* de bovinos alimentados com grãos de girassol (4,43%) e do tratamento controle (4,42%). Apesar da inclusão de óleo favorecer o aumento de C14:0, que foi visto neste trabalho, os valores observados foram inferiores aos encontrados na literatura.

Em relação ao tempo zero, foram observados maiores proporções de AGMI em hambúrgueres do tratamento CON (51,01%), em relação a LIN (48,64%), SOJ (48,20%) e GIR (47,93%). SOJ, GIR e LIN não diferiram entre si ($P < 0,05$). Valores semelhantes aos observados neste estudo para as proporções de AGMI foram relatados por Souza et al. (2007) em estudo avaliando o *Longissimus dorsi* de novilhas confinadas com inclusão de fontes de óleo na dieta (Linhaça – 50,38% e canola – 49,06%) em comparação a um tratamento controle sem adição de óleo (50,33%).

No tempo zero, foram observados maiores valores de C18:2 n6c para o tratamento SOJ, C18:2 n6t e C18:3 n3 para LIN. Os tratamentos LIN e SOJ proporcionaram maiores porcentagens de CLA c9 t11 e total de AGPI em relação a GIR e CON. LIN e SOJ não diferiram entre si ($P < 0,001$). Fernandes et al. (2009) observaram na carne de bovinos alimentados com grãos de girassol, maiores porcentagens de C18:2 n6c e CLA c9 t11 quando comparado com o tratamento sem inclusão de óleos ou sementes oleaginosas.

Houve redução dos valores do C14:0 e C16:0 após 90 dias para o tratamento CON, enquanto que houve aumento dos valores de AGS totais para os tratamentos com inclusão de óleo, o tratamento CON não apresentou diferenças, além do total de AGS, também houve aumento dos valores para C14:0, C16:0 e C18:0 para o GIR, o tratamento LIN foi responsável pela aumento dos valores de C16:0 e C18:0 e não foi observada diferença no C14:0, contrariamente o SOJ foi responsável pela redução do C14:0, aumento do C16:0 e o C18:0 não foi observada diferenças. Brito; Villavicencio; Mancini-Filho (2002) não encontraram diferença em amostras de carne moída bovina após 90 dias de armazenamento (2,53%) em relação à 60 dias (2,34%) e em relação à zero dias (2,53%) para o C14:0.

Tabela 5 – Médias em composição percentual e erro padrão da média dos ácidos graxos de hambúrgueres em função do tempo de armazenamento (zero e 90 dias) e dos tratamentos (Controle, Girassol, Linhaça e Soja)

Ácido Graxo	Zero					90				
	CON	GIR	LIN	SOJ	EPM	CON	GIR	LIN	SOJ	EPM
C9:0	0,04	-	-	0,03	0,01	<0,01	<0,01	0,01	-	0,01
C10:0	<0,01	0,01	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01
C11:0	<0,01	0,01	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01
C12:0	-	0,02	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01
C14:0	2,85 ^{cA}	3,23 ^{bB}	3,20 ^{bA}	3,38 ^{aA}	0,05	2,76 ^{cB}	3,42 ^{aA}	3,19 ^{bA}	3,20 ^{bB}	0,05
C14:1 c9	0,90 ^{cA}	0,87 ^{cA}	1,17 ^{aA}	0,99 ^{bA}	0,02	0,83 ^{bcB}	0,89 ^{bA}	1,08 ^{aB}	0,85 ^{bB}	0,02
C15:0	0,31 ^{bA}	0,34 ^{aA}	0,32 ^{bA}	0,24 ^{bB}	0,02	0,35 ^{aA}	0,36 ^{aA}	0,35 ^{aA}	0,35 ^{aA}	0,02
C15:1 c10	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	-	<0,01
C16:0	23,35 ^{aA}	22,63 ^{bB}	22,86 ^{bB}	23,57 ^{aA}	0,12	23,28 ^{bA}	23,43 ^{bA}	23,37 ^{bA}	23,90 ^{aA}	0,12
C16:1 c9	3,37 ^{bA}	2,84 ^{cA}	3,87 ^{aA}	3,49 ^{bA}	0,08	3,34 ^{bA}	2,38 ^{cB}	3,73 ^{aB}	3,18 ^{bB}	0,08
C16:1 t9	0,21 ^{bcB}	0,28 ^{aA}	0,23 ^{bB}	0,17 ^{cB}	0,01	0,29 ^{aA}	0,23 ^{bB}	0,29 ^{aA}	0,28 ^{aA}	0,01
C17:0	1,05 ^a	0,91 ^b	0,84 ^d	0,88 ^c	<0,01	1,09 ^a	0,96 ^b	0,88 ^c	0,95 ^b	<0,01
C17:1 c10	0,92 ^{aA}	0,65 ^{dA}	0,72 ^{cA}	0,77 ^{bA}	0,01	0,77 ^{aB}	0,62 ^{bA}	0,63 ^{bB}	0,64 ^{bB}	0,01
C17:1 t10	0,82 ^{aA}	0,41 ^{bA}	0,75 ^{aA}	0,82 ^{aA}	0,04	0,23 ^{abB}	0,32 ^{aA}	0,24 ^{abB}	0,21 ^{bB}	0,04
C18:0	14,77 ^{bB}	15,23 ^{aB}	13,04 ^{dB}	14,01 ^{cB}	0,12	15,29 ^{bA}	15,77 ^{aA}	13,69 ^{cA}	15,27 ^{bA}	0,12
C18:1 c6	0,05 ^{dB}	0,39 ^{aA}	0,30 ^{bA}	0,22 ^{cB}	0,02	0,17 ^{bA}	0,33 ^{aB}	0,35 ^{aA}	0,36 ^{aA}	0,02
C18:1 c11	1,49 ^{aA}	1,24 ^{bA}	1,42 ^{aA}	1,27 ^{bA}	0,04	0,81 ^{dB}	1,03 ^{cB}	1,37 ^{aA}	1,22 ^{bA}	0,04
C18:1 n9	0,17 ^{cA}	0,38 ^{aA}	0,29 ^{bB}	0,28 ^{bB}	0,02	0,16 ^{cA}	0,43 ^{aA}	0,36 ^{bA}	0,40 ^{abA}	0,02
C18:1 t11	1,19 ^{cA}	2,05 ^{bA}	2,21 ^{aA}	2,23 ^{aA}	0,03	0,54 ^{cB}	1,93 ^{bB}	2,29 ^{aA}	2,32 ^{aA}	0,03
C18:1 n9c	41,87	38,71	38,90	37,92	0,17	42,46	38,81	39,71	38,62	0,17
C18:2 n6c	2,47 ^{dA}	2,97 ^{bA}	2,76 ^{cA}	3,23 ^{aA}	0,06	1,65 ^{dB}	2,41 ^{aB}	1,92 ^{cB}	2,17 ^{bB}	0,06
C18:2 n6t	0,01 ^{dB}	0,19 ^{bA}	0,30 ^{aB}	0,14 ^{cB}	0,01	0,05 ^{cA}	0,04 ^{cB}	0,36 ^{aA}	0,21 ^{bA}	0,01
C18:3 n3	0,12 ^{cB}	0,20 ^{bB}	0,60 ^{aA}	0,14 ^{cA}	0,01	0,25 ^{bA}	0,24 ^{bA}	0,52 ^{aB}	0,13 ^{cA}	0,01

Continua... Tabela 5 – Composição percentual e erro padrão da média dos ácidos graxos de hambúrgueres em função do tempo de armazenamento (zero e 90 dias) e dos tratamentos (Controle, Girassol, Linhaça e Soja)

CLA c9 t11	0,33 ^{cB}	0,68 ^{bA}	0,77 ^{abA}	0,74 ^{aA}	0,02	0,47 ^{cA}	0,64 ^{bA}	0,74 ^{aA}	0,71 ^{aA}	0,02
C19:0	0,01 ^{cB}	0,09 ^{aA}	0,11 ^{aB}	0,03 ^{bA}	0,01	0,09 ^{bA}	0,02 ^{cB}	0,26 ^{aA}	0,03 ^{cA}	0,01
C20:0	-	0,04	0,01	<0,01	<0,01	0,04	<0,01	0,06	0,02	<0,01
C20:1 c8	-	<0,01	-	<0,01	<0,01	-	-	<0,01	-	<0,01
C20:1 c11	0,02 ^{bcA}	0,09 ^{aA}	<0,01 ^{cA}	0,03 ^{bA}	<0,01	0,01 ^{aA}	<0,01 ^{ab}	0,02 ^{aA}	<0,01 ^{ab}	<0,01
C20:2 n6	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C20:3 n6 c8 11 14	0,05 ^{bA}	0,13 ^{aA}	0,08 ^{bA}	0,06 ^{bA}	0,01	0,04 ^{abA}	<0,01 ^{bB}	0,05 ^{aA}	0,01 ^{abB}	0,01
C20:4 n6	0,50 ^{abA}	0,41 ^{cA}	0,46 ^{bcA}	0,55 ^{aA}	0,02	0,25 ^{aB}	0,17 ^{bB}	0,19 ^{abB}	0,18 ^{bB}	0,02
C20:5 n3	<0,01	0,02	0,20	0,10	0,03	<0,01	-	-	<0,01	0,03
C21:0	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	-	<0,01
C22:0	0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	-	-	<0,01	-	<0,01
C22:2 n6	-	<0,01	-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	-	<0,01
C22:3 n3	0,04	<0,01	<0,01	0,01	0,01	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	0,01
C22:4 n6	-	0,02	-	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	-	<0,01
C22:5 n3	0,10 ^{aA}	0,12 ^{aA}	0,11 ^{aA}	0,07 ^{aA}	0,01	0,07 ^{aA}	<0,01 ^{cB}	0,06 ^{abB}	<0,01 ^{bB}	0,01
C22:6 n3	-	-	<0,01	-	<0,01	-	-	-	-	<0,01
C23:0	0,13	<0,01	0,09	0,06	0,05	<0,01	-	<0,01	-	0,05
C24:0	<0,01 ^{aA}	<0,01 ^{ab}	0,04 ^{aA}	0,03 ^{aA}	<0,01	<0,01 ^{aA}	0,07 ^{aA}	0,04 ^{aA}	<0,01 ^{ba}	<0,01
Totais e relações										
AGS	42,55 ^{aA}	42,51 ^{ab}	39,47 ^{bB}	42,21 ^{ab}	0,41	42,91 ^{abA}	43,98 ^{aA}	41,82 ^{ba}	43,74 ^{aA}	0,41
AGMI	51,01 ^{aA}	47,93 ^{ba}	48,64 ^{bB}	48,20 ^{ba}	0,48	49,62 ^{ab}	47,00 ^{ba}	50,08 ^{aA}	48,09 ^{ba}	0,48
AGPI	3,67 ^{cA}	4,76 ^{ba}	5,17 ^{aA}	5,07 ^{aA}	0,11	2,82 ^{cB}	3,51 ^{bB}	3,86 ^{ab}	3,73 ^{bB}	0,11
Não identificados	2,76 ^{ba}	4,78 ^{abA}	6,7 ^{aA}	4,51 ^{abA}	0,87	4,65 ^{aA}	5,51 ^{aA}	4,24 ^{ab}	4,74 ^{aA}	0,87
AGPI:AGS	0,09 ^{dA}	0,11 ^{cA}	0,13 ^{aA}	0,12 ^{ba}	<0,01	0,06 ^{cB}	0,08 ^{bB}	0,09 ^{ab}	0,08 ^{bB}	<0,01
n6	3,03 ^{cA}	3,73 ^{ba}	3,52 ^{ba}	3,99 ^{aA}	0,08	1,99 ^{bB}	2,63 ^{ab}	2,53 ^{ab}	2,58 ^{ab}	0,08

Conclusão... Tabela 5 – Composição percentual e erro padrão da média dos ácidos graxos de hambúrgueres em função do tempo de armazenamento (zero e 90 dias) e dos tratamentos (Controle, Girassol, Linhaça e Soja)

n3	0,26 ^{bA}	0,34 ^{bA}	0,90 ^{aA}	0,33 ^{bA}	0,04	0,34 ^{bA}	0,24 ^{bcA}	0,58 ^{aB}	0,13 ^{cB}	0,04
n6:n3	7,99 ^{cA}	10,97 ^{aA}	4,62 ^{dA}	9,28 ^{bB}	0,39	6,16 ^{cB}	9,88 ^{bB}	4,67 ^{dA}	13,63 ^{aA}	0,38

*CON: Animais tratados sem a adição de óleo na dieta; GIR: Animais tratados com adição de óleo de girassol na dieta; LIN: Animais tratados com adição de óleo de linhaça na dieta; SOJ: Animais tratados com adição de óleo de soja na dieta; AGS: somatória dos ácidos graxos saturados (C9:0 + C10:0 + C11:0 + C12:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C19:0 + C20:0 + C21:0 + C22:0 + C23:0 + C24:0); AGMI: somatória dos ácidos graxos mono insaturados (C14:1 c9 + C15:1 c10 + C16:1 c9 + C16:1 t9 + C17:1 c10 + C17:1 t10 + C18:1 c6 + C18:1 c11 + C18:1 n9 + C18:1 t11 + C18:1 n9c + C20:1 c8 + C20:1 c11); AGPI: somatória dos ácidos graxos polinsaturados (C18:2 n6c + C18:2 n6t + C18:3 n3 + CLA c9 t11 + C20:2 n6 + C20:3 n6 c8 11 14 + C20:4 n6 + C20:5 n3 + C22:2 n6 + C22:3 n3 + C22:4 n6 + C22:5 n3 + C22:6 n3); CLA: ácido linoleico conjugado; n6: ômega 6 (C18:2 n6c + C18:2 n6t + C20:2 n6 + C20:3 n6 c8 11 14 + C20:4 n6 + C22:2 n6 + C22:4 n6); n3: ômega 3 (C18:3 n3 + C20:5 n3 + C22:3 n3 + C22:5 n3 + C22:6 n3); - sem identificação do ácido graxo.

^{a,b} Valores com letras minúsculas diferentes dentro do modo de preparo na mesma linha, diferem entre si pelo teste de T de Student (P<0,05).

^{A,B} Valores com letras maiúsculas diferentes dentro de tratamento na mesma linha, diferem entre si pelo teste de T de Student (P<0,05).

Foi observada redução dos valores AGPI, C18:2 n6c, relação AGPI:AGS e do total de n6 após 90 dias, para todos os tratamentos. As amostras com a inclusão de óleo na dieta obtiveram valores superiores de CLA c9 t11 quando comparados com o tratamento controle e para os mesmos não foi observado diferença através do período de armazenamento. Em estudo avaliando os efeitos do CLA na cor e oxidação lipídica em amostras de carne moída durante a estocagem refrigerada não foi observada alteração no CLA após 14 dias das amostras armazenadas (HUR et al., 2004). O CLA foi reportado como um componente estável quando comparado com outros ácidos graxos polinsaturados em amostras de carne moída bovina (SCHAEFER et al., 1995).

O período de 90 dias foi responsável pela redução dos ácidos graxos insaturados, tanto os monoinsaturados quanto os polinsaturados e isso se deve pela oxidação lipídica que ocorreu após 90 dias que pode ser visto pela análise de TBARS na figura 10. No entanto os AGS aumentaram para todos os tratamentos após o período de armazenagem, com a redução dos AGI há um aumento proporcional dos AGS. Era esperado que o período de armazenamento por 90 dias reduzisse os AGPI, já que quanto maior a insaturação do ácido graxo, maior a susceptibilidade deste frente à peroxidação.

Os AGPI são mais propensos a oxidarem, resultando na formação de alcanos, aldeídos e hidroperóxidos dentre outros produtos (HOGG; KALYANARAMAN, 1999). Essa redução também pode ser vista em trabalho analisando gemas de ovos com o tempo e o período de armazenamento por sete dias provocou a oxidação dos AGMI, que são mais instáveis do que os saturados devido à presença de uma ligação dupla (ROCHA et al., 2013).

Em geral, os tratamentos com inclusão de óleos apresentaram porcentagens de AGS superiores comparados ao grupo controle, sem inclusão de óleo, quando avaliados no tempo 90, tais como o C14:0 e C18:0. O total de AGS apresentou maiores valores para o tratamento SOJ, GIR e CON comparados com LIN. Os tratamentos SOJ, GIR e CON não diferiram entre si ($P < 0,05$), CON e LIN também não diferiram ($P = 0,065$) para o total de AGS. Brito; Villavicencio; Mancini-Filho (2002) não observaram diferenças em amostras de carne moída depois de 90 dias de armazenamento para o total de AGS.

Do mesmo modo que ocorreu no tempo zero com o total de AGPI, ocorreu no tempo 90, onde o LIN foi superior aos outros tratamentos. O LIN também foi responsável pelos valores superiores do C18:2 n6t, C18:3 n3, CLA c9 t11 e relação AGPI:AGS. Para o total de n6 e a relação AGPI:AGP foi observado valores superiores à todos os tratamentos com inclusão de óleo quando comparados ao controle.

Também verificou-se maiores porcentagens de C14:0, C16:0 e C17:0 para o hambúrgueres crus quando comparados com os grelhados, mas não foi observado diferença ($P=0,170$) para o total de AGS (Tabela 6) no tempo zero. Scheeder et al. (2001) observaram redução de C14:0, C16:0, C18:0 e o total de AGS em amostras de carne bovina grelhada. Porém, Rodriguez-Estrada et al. (1997) não observaram diferença no total de AGS após hambúrgueres bovinos serem submetidos a diferentes métodos de cocção quando com as amostras cruas.

Foram observados maiores porcentagens de C18:2 n6c, C18:2 n6t e total de AGPI nos hambúrgueres grelhados, quando comparados aos crus, assim como para a relação AGPI:AGS e total de n6. Ao comparar os métodos cru e grelhado, Scheeder et al., (2001) também relataram aumento de C18:2 n6c e total de AGPI em carne moída de bovinos tratados com fontes de óleos.

Não foi observada diferenças entre os métodos de preparo no tempo zero dias de armazenamento para o total de AGMI ($P=0,086$), C18:3 n3 ($P=0,157$), CLA c9 t11 ($P=0,587$), total n3 ($P=0,281$) e para a relação n6:n3 ($P=0,536$). Scheeder et al. (2001) também não observaram diferenças para o total de AGMI, C18:3 n3 e CLA.

Houve aumento de C17:0, C18:0 e total de AGS após 90 dias de armazenamento para ambos métodos de preparo. Os grelhados apresentaram aumento do C14:0, C15:0 e C16:0, aos 90 dias de armazenamento e observou-se aumento do C19:0 e C20:0 para o método cru e submetido aos 90 dias de armazenamento. Contrariamente após 90 dias houve redução dos valores de C14:0 e C15:0 para o método cru. Baggio (2004) não observou diferença para o C14:0 e AGS totais em amostras comerciais de *jerked beef*, após 90 dias de armazenamento (2,6 e 51%) comparado aos zero dias (2,9 e 51%). Brito, Villavicencio e Mancini-Filho (2002), também não observaram alterações no total de AGS, C14:0, C16:0 e C18:0 em carne moída bovina congelada por 90 dias. O aumento de AGS é proporcional com a redução dos AGPI que são mais susceptíveis a oxidação.

Tabela 6 – Composição percentual em ácidos graxos de hambúrgueres em função do tempo de armazenamento (0 e 90 dias) e métodos de preparo (cru e grelhado)

Ácido Graxo	0			90		
	Cru	Grelhado	EPM	Cru	Grelhado	EPM
C9:0	0,01	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C10:0	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01
C11:0	-	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C12:0	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C14:0	3,34 ^{aA}	2,99 ^{bB}	0,04	3,19 ^{aB}	3,10 ^{aA}	0,04
C14:1 c9	1,03 ^{aA}	0,93 ^{bA}	0,01	0,90 ^{aB}	0,92 ^{aA}	0,01
C15:0	0,30 ^A	0,31 ^B	0,01	0,36 ^B	0,34 ^A	0,01
C15:1 c10	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C16:0	23,43 ^{aA}	22,78 ^{bB}	0,09	23,48 ^{aA}	23,51 ^{aA}	0,09
C16:1 c9	3,43 ^{aA}	3,35 ^{aA}	0,06	2,85 ^{bB}	3,46 ^{aA}	0,06
C16:1 t9	0,20 ^{bB}	0,24 ^{aA}	0,01	0,29 ^{aA}	0,26 ^{aA}	0,01
C17:0	0,93 ^{aB}	0,91 ^{bB}	<0,01	0,98 ^{aA}	0,96 ^{bA}	<0,01
C17:1 c10	0,75 ^{bA}	0,78 ^{aA}	<0,01	0,64 ^{bB}	0,70 ^{aB}	<0,01
C17:1 t10	0,64 ^{bA}	0,76 ^{aA}	0,02	0,16 ^{bB}	0,34 ^{aB}	0,02
C18:0	14,30 ^{aB}	14,22 ^{aB}	0,08	15,17 ^{aA}	14,84 ^{bA}	0,08
C18:1 c6	0,23 ^{aB}	0,25 ^{aA}	0,01	0,33 ^{aA}	0,28 ^{bA}	0,01
C18:1 c11	1,33 ^A	1,38 ^A	0,03	1,09 ^B	1,12 ^B	0,03
C18:1 n9	0,22 ^{bB}	0,34 ^{aA}	0,01	0,32 ^{aA}	0,35 ^{aA}	0,01
C18:1 t11	1,93 ^{aA}	1,90 ^{aA}	0,02	1,82 ^{aB}	1,72 ^{bB}	0,02
C18:1 n9c	39,34 ^B	39,36 ^B	0,12	39,99 ^A	39,81 ^A	0,12
C18:2 n6c	2,70 ^{bA}	3,02 ^{aA}	0,04	1,83 ^{bB}	2,24 ^{aB}	0,04
C18:2 n6t	0,14 ^{bB}	0,19 ^{aA}	0,01	0,18 ^{aA}	0,16 ^{aA}	0,01
C18:3 n3	0,25	0,27	0,01	0,27	0,30	0,01
CLA c9 t11	0,65	0,63	0,02	0,66	0,62	0,02
C19:0	0,05 ^{aB}	0,07 ^{aA}	<0,01	0,11 ^{aA}	0,09 ^{aA}	<0,01
C20:0	<0,01 ^{aB}	0,02 ^{aA}	<0,01	0,04 ^{aA}	0,02 ^{bA}	<0,01
C20:1 c8	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01
C20:1 c11	0,02 ^{bA}	0,05 ^{aA}	<0,01	0,01 ^{aA}	<0,01 ^{aB}	<0,01
C20:2 n6	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C20:3 n6 c8 11 14	0,05 ^{bA}	0,11 ^{aA}	<0,01	0,02 ^{aB}	0,03 ^{aB}	<0,01
C20:4 n6	0,43 ^{bA}	0,53 ^{aA}	0,02	0,13 ^{bB}	0,27 ^{aB}	0,02
C20:5 n3	0,11	0,06	0,02	-	<0,01	0,02
C21:0	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01
C22:0	<0,01	<0,01	<0,01	-	-	<0,01
C22:2 n6	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01
C22:3 n3	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
C22:4 n6	<0,01	<0,01	<0,01	-	-	<0,01
C22:5 n3	0,07 ^{bA}	0,13 ^{aA}	<0,01	<0,01 ^{bB}	0,06 ^{aB}	<0,01
C22:6 n3	<0,01	-	<0,01	-	-	<0,01
C23:0	0,07	0,07	0,03	-	<0,01	0,03
C24:0	0,01 ^a	0,03 ^a	0,01	<0,01 ^b	0,05 ^a	0,01
Totais e relações						
AGS	41,97 ^B	41,41 ^B	0,29	43,34 ^A	42,88 ^A	0,29
AGMI	48,53	49,36	0,34	48,41	48,98	0,34
AGPI	4,35 ^{bA}	4,99 ^{aA}	0,08	3,13 ^{bB}	3,68 ^{aB}	0,08
Não identificados	5,14	4,24	0,61	5,11	4,46	0,61

Conclusão... Tabela 7 – Composição percentual em ácidos graxos de hambúrgueres em função do tempo de armazenamento (0 e 90 dias) e métodos de preparo (cru e grelhado)

AGPI:AGS	0,10 ^{bA}	0,12 ^{aA}	<0,01	0,07 ^{bB}	0,09 ^{aB}	<0,01
n6	3,28 ^{bA}	3,86 ^{aA}	0,06	2,17 ^{bB}	2,70 ^{aB}	0,06
n3	0,44 ^A	0,48 ^A	0,03	0,29 ^B	0,36 ^B	0,03
n6:n3	8,09	8,34	0,27	8,28	8,89	0,28

*CON: Animais tratados sem a adição de óleo na dieta; GIR: Animais tratados com adição de óleo de girassol na dieta; LIN: Animais tratados com adição de óleo de linhaça na dieta; SOJ: Animais tratados com adição de óleo de soja na dieta; AGS: somatória dos ácidos graxos saturados (C9:0 + C10:0 + C11:0 + C12:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C19:0 + C20:0 + C21:0 + C22:0 + C23:0 + C24:0); AGMI: somatória dos ácidos graxos mono insaturados (C14:1 c9 + C15:1 c10 + C16:1 c9 + C16:1 t9 + C17:1 c10 + C17:1 t10 + C18:1 c6 + C18:1 c11 + C18:1 n9 + C18:1 t11 + C18:1 n9c + C20:1 c8 + C20:1 c11); AGPI: somatória dos ácidos graxos polinsaturados (C18:2 n6c + C18:2 n6t + C18:3 n3 + CLA c9 t11 + C20:2 n6 + C20:3 n6 c8 11 14 + C20:4 n6 + C20:5 n3 + C22:2 n6 + C22:3 n3 + C22:4 n6 + C22:5 n3 + C22:6 n3); CLA: ácido linoleico conjugado; n6: ômega 6 (C18:2 n6c + C18:2 n6t + C20:2 n6 + C20:3 n6 c8 11 14 + C20:4 n6 + C22:2 n6 + C22:4 n6); n3: ômega 3 (C18:3 n3 + C20:5 n3 + C22:3 n3 + C22:5 n3 + C22:6 n3); - sem identificação do ácido graxo.

^{a,b} Valores com letras minúsculas diferentes dentro do modo de preparo na mesma linha, diferem entre si pelo teste de T de Student (P<0,05).

^{A,B} Valores com letras maiúsculas diferentes dentro de tratamento na mesma linha, diferem entre si pelo teste de T de Student (P<0,05).

Em geral, houve redução dos valores de C18:2 n6c, C20:3 n6 c8 11 14. C20:4 n6 e total de AGPI, nos hambúrgueres, após 90 dias de armazenamento, para ambos os métodos de preparo. De modo similar, houve redução para a relação AGPI:AGS e para os totais de n6 e n3.

Visto que a oxidação de lipídeos é a deterioração mais importante em carnes e derivados e que a os AGPI são os principais a oxidarem, logo a redução de AGPI desse estudo se relaciona com o aumento da oxidação lipídica como pode ser observado na Figura 11. A relação AGPI:AGS reduziu, pois foi observado aumento nos AGS e redução dos AGPI. Sendo os n6 e n3 AGPI, os mesmos reduziram com o tempo possivelmente com através da oxidação.

Aos 90 dias de armazenamento, o C17:0, C18:0 e C20:0 foi maior para os hambúrgueres crus quando comparados com o método grelhado, enquanto que o total de AGS (P=0,262), C14:0 (P=0,083) e C16:0 (P=0,838) não foi verificada a diferença entre os métodos de preparo. Baggio e Bragagnolo (2006) também não observaram diferença após hambúrgueres bovinos serem grelhados para o total de AGS, C14:0 e C16:0. Scheeder et al. (2001) observaram maiores porcentagens de C18:0 em carne moída bovina crua proveniente de animais tratados com fontes de gordura em relação à carne grelhada.

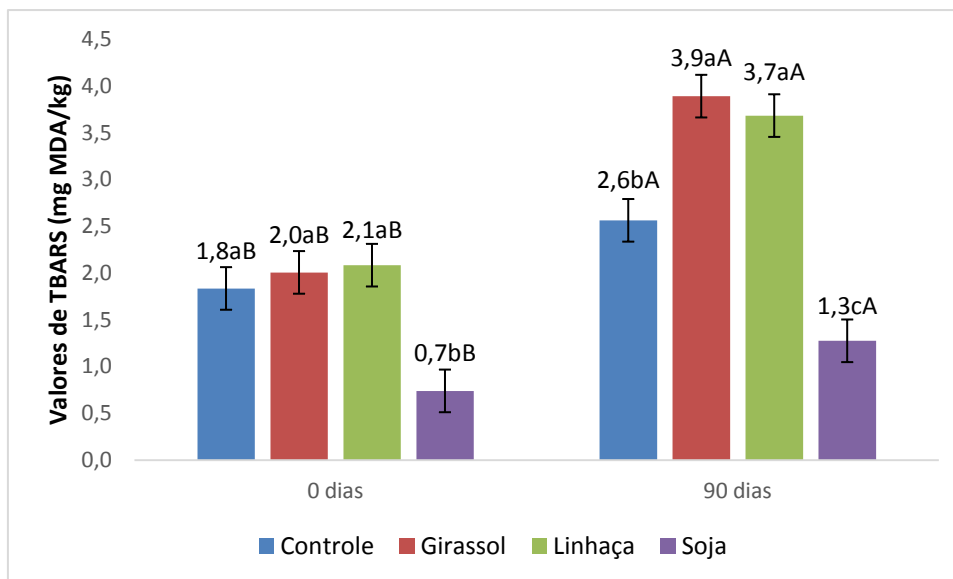
Os hambúrgueres grelhados e armazenados por 90 dias tiveram maiores porcentagens de C18:2 n6c, C20:4 n6 e total de AGPI. Em adição, observou-se maiores valores da relação AGPI:AGS e para o total de n6 para o método grelhado, quando comparados ao cru. O mesmo comportamento que foi verificado no tempo zero de armazenamento, também foi observado nas amostras acondicionadas por 90 dias, no qual não foi observada diferença ($P=0,113$) no total de n3. Baggio e Bragagnolo (2006) não observaram diferença no total de n6 para hambúrgueres bovinos, mas numericamente as amostras grelhadas (11,6%) foram superiores às amostras cruas (11,3%), além disso, os autores também não observaram diferenças no total de n3 nas amostras cruas e grelhadas.

6.2 Substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Foi observada uma interação tripla entre as fontes de óleo, tempo de armazenamento e modo de preparo para os resultados de TBARS ($P<0,0001$).

O tempo zero proporcionou menores valores de TBARS ($P<0,0001$) nos hambúrgueres do tratamento SOJ em relação aos demais tratamentos (Figura 9) que por sua vez não diferiram entre si.

Figura 9 – Médias dos valores de TBARS em função das fontes de óleo e dos tempos de estocagem dos hambúrgueres



Fonte: Própria autoria

^{a,b} Valores com letras minúsculas diferentes dentro de cada tempo de armazenamento, diferem entre si pelo teste de T de Student ($P < 0,05$).

^{A,B} Valores com letras maiúsculas diferentes dentro de tratamento, diferem entre si pelo teste de T de Student ($P < 0,05$).

Houve um aumento dos valores de TBARS após 90 dias de armazenamento, para todos os tratamentos, quando comparados com o tempo zero ($P < 0,0001$). O tratamento GIR foi o que mais aumentou (95%), seguido do tratamento de soja (85%), tratamento linhaça (76%) e o tratamento que menos aumentou foi o controle (44%) assim como já era esperado, por não conter adição de óleos vegetais. Após 90 dias de armazenamento, não foi observada diferença entre os tratamentos GIR e LIN, no entanto, eles apresentaram maiores valores de TBARS em comparação ao tratamento CON e SOJ ($P < 0,0001$). Foram observados maiores valores de TBARS para o tratamento CON em comparação ao SOJ ($P < 0,0001$).

Os menores valores para TBARS para os hambúrgueres produzidos a partir de carne de bovinos que foram alimentados com a dieta contendo óleo de soja, tanto para o tempo zero quanto para o tempo 90, também foi observado para os métodos cru e grelhado (Figura 10). É possível que isso tenha ocorrido devido ao óleo de soja conter alguns componentes menores que podem ter sido recuperados durante o processo de refino, tais como os tocoferóis (vitamina E), que são antioxidantes lipossolúveis atuando no bloqueio da reação em cadeia da peroxidação lipídica (HASLAM, 1996).

Era previsto maiores valores de TBARS para as amostras dos bovinos que

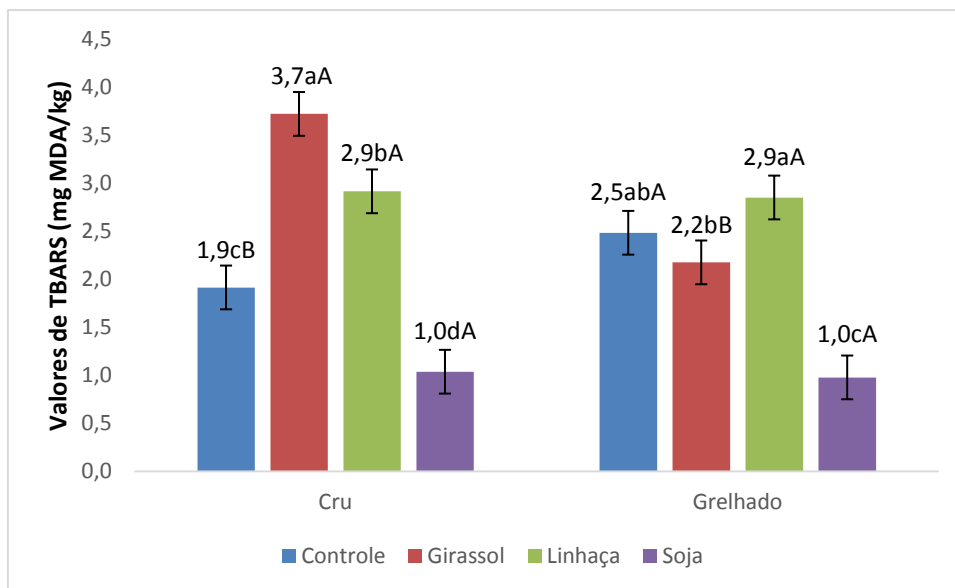
receberam óleo de linhaça, pois o ácido linolênico (C18:3 n3) oxida duas vezes mais rápido em relação ao ácido linoleico (C18:2 n6) (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010) e as amostras desse tratamento possuíram maior proporção do ácido linolênico e menor proporção do ácido linoleico quando comparado aos demais tratamentos, como pode ser observado nas Tabelas 4 e 5.

Os resultados de TBARS observados nesse estudo, com relação ao tempo de armazenamento, foram semelhantes aos relatados por Machado (2009), que avaliou o efeito de congelamento à -18°C e armazenamento de carne moída e bife de bovinos e também encontrou aumento dos valores de TBARS com aumento de 30, 60 e 120 dias para tanto para as amostras de carne moída quanto aos bifes. Da mesma forma, Georgantelis et al. (2007) avaliaram o efeito de antioxidantes naturais e químicos em hambúrgueres produzidos a partir de carne bovina dos cortes *brisket* (peito) e *flank* (bife do vazio) armazenando-os à -18°C por 180 dias, e observaram um aumento nos valores de TBARS, tanto para o tratamento controle, com valores mais acentuados, quanto para os tratamentos contendo antioxidantes.

O congelamento é um método de armazenamento de alimentos utilizado com o objetivo de reduzir os efeitos deteriorativos e aumentar a vida útil dos mesmos. Durante o armazenamento de produtos resfriados e congelados, a oxidação lipídica é mais lenta em relação aos produtos que não são submetidos a esses métodos de armazenamento, uma vez que as espécies reativas são solúveis na fração lipídica e estáveis a baixas temperaturas (ZARZYCKY; SWINIARSKA, 1993). Assim, o efeito do congelamento nos hambúrgueres, no presente estudo pode ter retardado a oxidação lipídica, mas não evitado, como pode ser verificado, com os maiores valores de TBARS após 90 dias de congelamento dos hambúrgueres.

Quando comparados os métodos de preparo, pode-se observar que nos hambúrgueres crus, todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,0001$), com relação aos valores de TBARS, com maior concentração no tratamento GIR, seguido pelos tratamentos LIN, CON e SOJ, respectivamente (Figura 10). Nos hambúrgueres grelhados, o menor valor de TBARS foi observado no tratamento SOJ, em comparação aos demais ($P < 0,05$). Os tratamentos CON e LIN não diferiram entre si, porém apresentaram maiores concentrações de TBARS em relação ao GIR ($P < 0,05$).

Figura 10 - Médias dos valores de TBARS em função dos tratamentos e dos métodos de preparo dos hambúrgueres



Fonte: Própria autoria

^{a,b} Valores com letras minúsculas diferentes dentro do modo de preparo, diferem entre si pelo teste de T de Student ($P < 0,05$).

^{A,B} Valores com letras maiúsculas diferentes dentro de tratamento, diferem entre si pelo teste T de Student ($P < 0,05$).

Foi observado um aumento dos valores de TBARS nos hambúrgueres grelhados em comparação aos crus, no tratamento CON ($P = 0,013$). Efeito contrário foi observado para o tratamento GIR, onde a concentração de TBARS foi maior nos hambúrgueres crus ($P < 0,0001$). Já os tratamentos LIN e SOJ não diferiram nos diferentes métodos de preparo.

Os hambúrgueres grelhados do tratamento GIR apresentaram menores valores de TBARS, em relação às amostras cruas. Isso pode ser explicado pela perda de aldeídos voláteis durante o cozimento como exemplo o malonaldeído e outros aldeídos presentes nas amostras cruas.

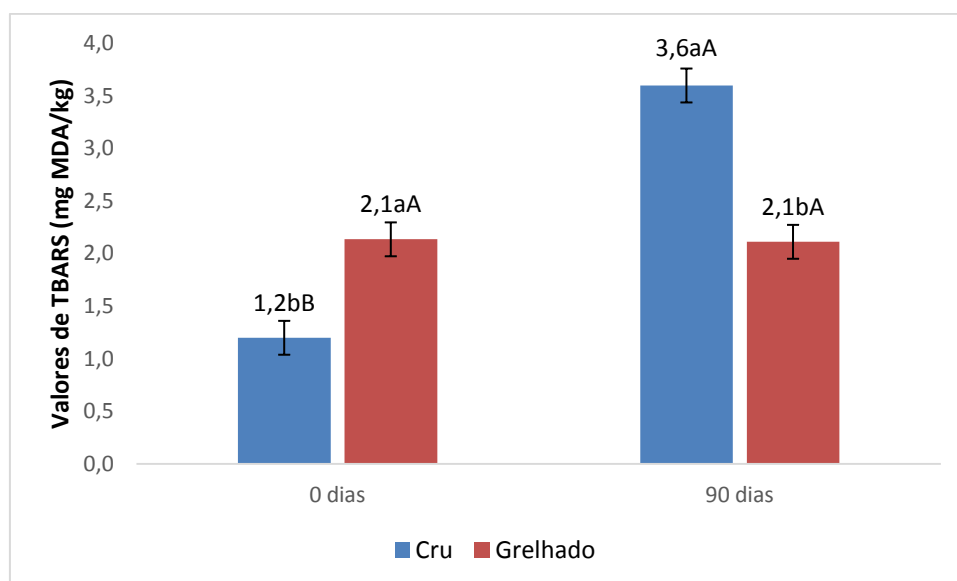
Também, Monteiro (2013) avaliou o efeito da adição de óleo essencial extraído da *Aloysia triphylla* na estabilidade oxidativa de hambúrgueres de carne bovina e verificou maiores valores de TBARS em amostras cruas, independente dos tratamentos, inclusive para o tratamento controle, quando comparado às amostras cozidas.

As amostras grelhadas no tempo zero e as amostras grelhadas do tratamento controle resultaram em valores de TBARS maiores, em relação àquelas cruas, podendo ser explicado pelo aumento da oxidação lipídica da carne, devido à cocção, que aumenta a velocidade de oxidação, quando comparado aos hambúrgueres crus (FASSEAS et al.,

2008; SÁYAGO-AYERDI; BRENES; GOÑI, 2009). Portanto, o aquecimento de carne influencia vários fatores associados à oxidação lipídica tais como: rompimento das estruturas celulares dos músculos, inativação de enzimas antioxidantes, liberação de oxigênio e ferro das mioglobinas (MIN; CORDRAY; AHN, 2011).

Com relação ao efeito do tratamento térmico em função do tempo de estocagem, foram observados maiores valores de TBARS nos hambúrgueres grelhados no tempo zero ($P < 0,0001$). No entanto, o mesmo não foi observado após 90 dias de estocagem, nos hambúrgueres crus apresentaram maiores valores de TBARS em relação aos grelhados ($P < 0,0001$) (Figura 11). Os hambúrgueres crus armazenados por 90 dias apresentaram maiores valores de TBARS em relação aos hambúrgueres do tempo zero ($P < 0,0001$). Porém, não foi observado efeito do tempo de armazenamento nos hambúrgueres grelhados.

Figura 11 - Médias dos valores de TBARS em função dos métodos de preparo e dos tempos de estocagem dos hambúrgueres



Fonte: Própria autoria

^{a,b} Valores com letras minúsculas diferentes dentro do tempo de armazenamento, diferem entre si pelo teste de T de Student ($P < 0,05$).

^{A,B} Valores com letras maiúsculas diferentes dentro de modo de preparo, diferem entre si pelo teste de T de Student ($P < 0,05$).

Corroborando com os resultados encontrados neste experimento, Machado (2009), encontrou valores superiores de TBARS após 120 dias de armazenamento de amostras de carne moída e bifes crus, quando comparadas com zero dias de armazenamento. O período armazenamento de seis meses também foi responsável pelo

aumento dos valores de TBARS, quando comparado às amostras com menor período de armazenamento de amostras do *Longissimus dorsi* bovino (AKKÖSE; AKTAS, 2008).

Rodriguez-Estrada et al. (1997) avaliaram diferentes métodos de cocção de hambúrgueres bovinos e verificaram valores de peroxidação maiores nas amostras cruas quando comparadas com as amostras grelhadas e contrariamente observou mais valores do índice de total de oxidação (TOTOX) para as amostras grelhadas em comparação com as amostras cruas. Os autores explicaram a redução dos peróxidos após o tratamento térmico por meio da transformação dos mesmos em outros compostos secundários da oxidação e explicaram que o índice tottox aumentou após o processo térmico, pois parte dos compostos secundários podem ter combinado com outras moléculas, tais como os produtos da reação de Maillard e geram uma série de outros compostos que podem interferir nesses resultados.

O armazenamento propicia às carnes maior suscetibilidade à oxidação por meio da ação da luz, oxigênio e presença de mioglobina, com a aceleração da oxidação (ASGHAR et al., 1988). Sendo então que após o processamento das carnes, a superfície de contato com o ar aumenta ficando então os hambúrgueres mais expostos a oxidação, podendo explicar esse aumento após 90 dias de armazenamento.

6.3 Colesterol e Óxidos de Colesterol

Não foi observada interação entre os fatores para os valores de colesterol ($P=0,227$).

Também não foi observado efeito dos tratamentos sobre a concentração de colesterol.

Como não foram encontrados trabalhos com a utilização de hambúrgueres bovinos com carne proveniente de animais alimentados com fontes de óleos vegetais que avaliaram o colesterol para a comparação, utilizou-se trabalhos que avaliaram a carne bovina. De Oliveira (2010) também não encontrou diferenças entre amostras de carne de animais zebuínos que receberam diferentes grãos de oleaginosas na dieta comparando grãos de soja, sementes de linhaça, caroço de algodão e tratamento controle, demonstrando que o elevado teor de extrato etéreo na dieta não implica, necessariamente, em aumentos no teor de colesterol presente nas carnes.

Ao avaliar o efeito de colesterol e oxidação lipídica em hambúrguer bovino com adição de óleo de linhaça, farinha de linhaça e semente de linhaça, Novello e Pollonio

(2013) não observaram diferença entre as amostras controle e as amostras com adição de derivados da linhaça para os hambúrgueres crus, da mesma forma que não houve diferença entre os tratamentos utilizados nesse trabalho. Enquanto que para as amostras grelhadas, observou-se que as amostras do tratamento controle obtiveram maiores teores de colesterol quando comparado com as amostras do tratamento com adição de óleo de linhaça, as amostras com adição de farinha e com semente de linhaça não foram nem diferentes entre si nem diferentes dos outros tratamentos.

Almeida (2013) trabalhou com a suplementação de grãos de girassol para cordeiros e não observou efeito ($P=0,30$) de teores de colesterol no músculo dos animais suplementados quando comparado com os animais que não tiveram nenhum tipo de suplementação.

Os hambúrgueres grelhados apresentaram maiores teores de colesterol ($P=0,002$) quando comparado com as amostras que foram avaliadas cruas (Tabela 7).

Tabela 8- Médias e erro padrão da média (EPM) dos teores de colesterol em função dos tratamentos, métodos de preparo e tempos de armazenamento

		Colesterol (mg/100 g)
Tratamento	Controle	32,10±1,82
	Girassol	30,60±1,82
	Linhaça	27,80±1,82
	Soja	30,67±1,79
Método de preparo	Cru	27,38±1,28 ^b
	Grelhado	33,23±1,27 ^a
Tempos de armazenamento	Zero	32,00±1,26
	90	28,61±1,30

^{a,b} Valores de letras minúsculas diferentes na mesma coluna, dentro de fontes de óleo, método de preparo e tempo de armazenamento, diferem entre si pelo teste de T de Student ($P<0,05$).

Em estudo avaliando o efeito do tratamento térmico sobre os teores de colesterol de hambúrgueres bovinos, Baggio e Bragagnolo (2006) observaram maiores valores para as amostras grelhadas (34,4 mg/100g), em comparação com as amostras avaliadas cruas (30,0 mg/100g), com valores semelhantes aos encontrados nesse trabalho.

Tenuta-Filho et al. (2003) avaliaram a presença de colesterol e óxidos de colesterol em hambúrgueres fritos e encontraram variação de 21,47 mg/100 g à 45,89 mg/100 g nas amostras avaliadas.

Através da análise de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos, Pie, Spahis e Seillan (1991) encontraram o aumento nos teores de colesterol de carnes bovinas picadas submetidas a dois diferentes tempos de cocção, três e dez minutos.

Houve aumento dos teores de colesterol em estudo avaliando os teores de colesterol em hambúrgueres bovinos, com adição óleo de linhaça dourada, adição de farinha de linhaça e adição de semente de linhaça, para todos os tratamentos, inclusive o controle, após serem grelhados em relação às amostras cruas (NOVELLO; POLLONIO, 2013).

O aumento dos teores de colesterol, neste estudo nas amostras de hambúrgueres grelhadas foi atribuído pela perda de água durante o tratamento térmico por meio do método de cocção e em consequência ocorre o aumento proporcional da concentração dos teores de colesterol e de outros constituintes nas amostras.

Por outro lado, em estudo que analisou o efeito de diferentes métodos de cocção nos teores de colesterol de hambúrgueres bovinos observaram redução dos teores de colesterol após todos os métodos de preparo utilizados, inclusive para as amostras grelhadas (RODRIGUEZ-ESTRADA et al., 1997). A ocorrência da redução dos teores de colesterol após o método de cocção pode ser atribuída pela perda de gordura durante o cozimento dos mesmos.

Não foi observado efeito do tempo de armazenamento sobre os teores de colesterol (Tabela 7).

Baggio (2004) analisou teores de colesterol em produtos cárneos processados durante a estocagem e verificou que os tempos de estocagem utilizados (zero, 30, 60, 90 e 120 dias) não alteraram o teor de colesterol das amostras de três diferentes lotes de *jerked beef* (variando de 40 a 46 mg/100g), salame (48 a 57 mg/100g), mortadela de frango (45 a 50mg/100g) e mortadela de Chester (46 a 53mg/100g).

Baggio e Bragagnolo (2004) trabalharam com os teores de colesterol de produtos cárneos processados bovinos e encontraram teores de colesterol que variaram de 17,7 mg/100g de amostra a 37,7 mg/100 g de amostra em cinco diferentes marcas comerciais de hambúrgueres. No mesmo trabalho os teores de colesterol para cinco diferentes marcas de almôndegas comerciais variaram de 23,6 mg/100g de amostra a 33,7 mg/100g de amostra. Portanto, os valores encontrados neste trabalho estão em acordo com aqueles observados na literatura.

Após 90 dias de armazenamento, foram observadas diferenças na proporção para os óxidos de colesterol, nos tratamentos GIR e LIN, quando comparados a CON e SOJ

(Tabela 8). Os tratamentos CON e SOJ não diferiram entre si ($P=0,671$), GIR e LIN também não diferiram entre si ($P=0,105$).

Tabela 9 – Médias e erro padrão da média (EPM) na escala logarítmica¹ e frequência de óxidos de colesterol de hambúrgueres em função dos tratamentos e tempos de armazenamento

Tempo	Tratamento	Frequência (%)
Zero	Controle	18,75 ^{aA}
	Girassol	12,50 ^{aB}
	Linhaça	12,50 ^{aB}
	Soja	6,25 ^{aA}
90	Controle	18,75 ^{bA}
	Girassol	62,50 ^{aA}
	Linhaça	87,50 ^{aA}
	Soja	25,00 ^{bA}
Método de preparo	Cru	28,57
	Grelhado	31,74

^{a,b} Valores com letras minúsculas diferentes na mesma coluna, dentro de tempo de armazenamento, diferem entre si pelo teste do qui-quadrado Wald ($P<0,05$).

^{A,B} Valores com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, dentro de tratamento, diferem entre si pelo teste do qui-quadrado Wald ($P<0,05$).

Não foi observado efeito de tratamentos, em relação ao tempo de armazenamento, nos hambúrgueres do tempo zero, para a presença de óxidos de colesterol.

Não foi observada diferença entre os tratamentos no tempo zero dias de armazenamento com a proporção de óxidos de colesterol variando de 6,25% para o tratamento SOJ, 12,5% para os tratamentos GIR e LIN e 18,75% para o tratamento CON.

Após 90 dias de armazenamento, houve diferença na presença de óxidos de colesterol, para os tratamentos GIR ($P=0,004$) e LIN ($P<0,0001$), sendo então que após 90 dias de armazenamento a frequência de óxidos de colesterol aumentou. Os tratamentos CON e SOJ não diferiram após 90 dias quando comparados com o tempo zero ($P=1,000$ e $P=0,149$, respectivamente).

Osada et al. (2000) mostraram que o aumento da concentração de óxidos de colesterol é acompanhada pela redução do ácido linoleico corroborando com os resultados encontrados nesse trabalho do qual todos os tratamentos tiveram o valor de C18:2 n6c reduzidos após 90 dias de armazenamento (Tabela 5).

Britt et al. (1998) avaliaram a presença do 7-cetocolesterol em amostras de carne

moída comparando tempo de estocagem em 4 dias e observaram aumento de 16 μ /g de amostra para o tempo 4 dias e 3,15 μ /g no tempo 0 dias de estocagem. Também foi encontrado o aumento do nível de óxidos de colesterol em amostras de almôndegas estocadas por duas semanas, foi observado valores de 5,5 μ /g de lipídeos no tempo zero dias e 16,1 μ /g de lipídeos para tempo duas semanas (LARKESON; DUTTA; HANSSON, 2000). Pie, Spahis e Seillan (1991) encontraram aumento nos óxidos de colesterol após amostras de carne bovina picadas serem submetidas ao armazenamento de 90 dias à 20°C tanto para as amostras cruas tanto para as amostras cozidas, os mesmos autores submeteram carne de vitela e carne suína e todas elas aumentaram a concentração de óxidos de colesterol após 90 dias de armazenamento.

Vore (1988) determinou a presença do óxido de colesterol 7-cetocolesterol em carne moída bovina resfriada à 4°C em amostras armazenadas por quatro dias e observou aumento dos valores de óxidos de colesterol nas amostras após o período de armazenamento. Em outro estudo avaliando o efeito de armazenamento de bife bovino resfriado à 4°C por quatro dias demonstrou aumento dos níveis de óxido de colesterol sendo observado 1,4 ppm para o dia zero e 5,9 ppm para o dia quatro (ENGESETH; GRAY, 1994).

Mazalli (2006) trabalhou com o efeito do tempo de estocagem na formação de óxidos de colesterol em ovos e observou aumento dos óxidos de colesterol conforme aumentou o período de armazenamento, uma das atribuições desse aumento foi que todos os ácidos graxos polinsaturados reduziram suas concentrações durante a estocagem, podendo ter sofrido oxidação com a possível formação de radicais livres e peróxidos que podem ter contribuído para o aumento dos óxidos de colesterol, da mesma forma que pode ter ocorrido nesse trabalho, pois como pode ser visto na Tabela 5, o total de ácidos graxos polinsaturados reduziu com o período de 90 dias de armazenamento.

6.4 Análise Sensorial

Não foi observada interação entre os fatores para nenhum dos atributos avaliados na análise sensorial (Tabela 9).

Não houve interação dos tratamentos sobre o aroma, a textura, a suculência e a aceitabilidade global dos hambúrgueres. Com relação ao sabor, foi observado menor valor para o tratamento LIN, sendo que os demais tratamentos não diferiram entre si.

Resultados semelhantes foram observados por Novello e Pollonio (2012) que avaliaram a adição de óleo de linhaça dourada em hambúrgueres bovinos e verificaram resultados semelhantes em relação ao sabor, sendo que o tratamento controle foi sensorialmente mais aceito quando comparado às formulações contendo 5, 7 e 10% de óleo. Em resposta a menores valores atribuídos pelos provadores para sabor e aroma de produtos que contenham alta porcentagem de linhaça e seus derivados, esses produtos podem elevar a oxidação lipídica e elevar o sabor e aroma de ranço (SANTOS et al., 2008).

Tabela 10 - Médias e erro padrão da média (EPM) dos atributos sensoriais em função dos tratamentos e tempos de armazenamento

Atributo		Aroma	Textura	Suculência	Sabor	Aceitabilidade Global
Tratamentos	Controle	6,67±0,11	6,12±0,13	6,59±0,12	7,04±0,11 ^a	6,71±0,11
	Girassol	6,84±0,09	6,05±0,12	6,49±0,11	7,10±0,10 ^a	6,77±0,10
	Linhaça	6,69±0,10	6,09±0,12	6,72±0,11	6,65±0,12 ^b	6,58±0,10
	Soja	6,89±0,10	6,13±0,13	6,72±0,11	7,12±0,10 ^a	6,82±0,10
Tempo de armazenamento	Zero	6,83±0,09	6,29±0,10 ^A	6,75±0,10	7,08±0,09	6,87±0,09 ^A
	90	6,72±0,09	5,90±0,12 ^B	6,51±0,11	6,87±0,10	6,58±0,10 ^B

^{a,b} Valores com letras minúsculas diferentes na mesma coluna, dentro de armazenamento, diferem entre si pelo teste de T de Student (P<0,05).

^{A,B} Valores com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, dentro de tempo de armazenamento, diferem entre si pelo teste de T de Student (P<0,05).

A elevada porcentagem de ácido linolênico no óleo de linhaça (53,3%), o qual pode ser facilmente oxidado, pode ter resultado na formação de produtos com sabores indesejáveis, como exemplo o 2,4-heptadienal (SNYDER; FRANKEL; SELKE, 1985) que é caracterizado como um produto da degradação de ácidos graxos (MACHADO et al., 2007). Neste trabalho, o tratamento LIN apresentou maiores valores de malonaldeído (Figura 11), juntamente com o tratamento GIR, o que pode ter sido responsável pela menor aceitação de sabor atribuída pelos potenciais consumidores. Portanto, a presença de compostos indesejáveis pode ser a causa do pior sabor relacionado aos hambúrgueres provenientes da carne de bovinos alimentados com a dieta contendo óleo de linhaça.

Ao comparar os atributos sensoriais entre os tempos de armazenamento, não foram encontradas diferenças para o aroma, suculência e sabor. No entanto, a textura e a aceitabilidade global apresentaram menores valores após 90 dias de armazenamento (P=0,010 e P=0,019; respectivamente).

O congelamento é um meio de estender a vida útil de alimentos, pois ao diminuir a temperatura as reações físicas, químicas e bioquímicas que são responsáveis pelas alterações sensoriais passam a acontecer em menor velocidade (PAINE; PAINE, 2012). Mas através do método de descongelamento rápido pode haver acúmulo de água no espaço extracelular e eventualmente drenando como exsudato (GONZALEZ-SANGUINETTI; ANON; CALVELO, 1985). Dessa forma, a redução da aceitabilidade dos consumidores para o atributo textura e aceitabilidade global dos hambúrgueres após os 90 dias de armazenamento pode ser relacionada com a perda de água após o descongelamento e assim ter modificado a textura dos mesmos. Após 90 dias algumas fichas de avaliação apresentaram comentários para textura tais como: “muito dura”, “duro”, “borrachento”.

Pode ser observado na Figura 10, que os valores de TBARS foram superiores em todos os tratamentos após 90 dias de armazenamento, podendo ter influenciado na menor aceitabilidade global dos hambúrgueres após os mesmos serem armazenados por 90 dias, pois valores entre 1 e 2 mg MD/kg é limiar para rancificação (VERMA; SAHOO, 2000) e que valores mínimos de TBARS detectáveis para sabores oxidados em carne moída bovina por consumidores seria entre 0,6 e 2mg MD/kg (GREENE; CUMUZE, 1982).

7 CONCLUSÕES

O fornecimento de óleos insaturados para bovinos confinados aumenta a porcentagem de ácidos graxos polinsaturados em hambúrgueres produzidos com carne e gordura desses animais.

A inclusão de óleos vegetais para bovinos aumenta a oxidação lipídica de hambúrgueres produzidos a partir de carne e gordura provenientes desses animais quando comparados a um tratamento sem inclusão de óleos vegetais.

Hambúrgueres produzidos com carne e gordura de animais alimentados com óleos vegetais na dieta possuem maior oxidação lipídica após 90 dias de armazenamento quando comparados com os hambúrgueres do tempo zero e dos hambúrgueres do tratamento controle.

O processamento térmico foi responsável por alterar a oxidação lipídica de hambúrgueres produzidos a partir de carne e gordura de bovinos alimentados com fontes de óleos insaturados.

De maneira geral, os hambúrgueres provenientes dos animais que foram tratados com óleo de soja na dieta apresentaram melhores resultados para a oxidação das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Perfil da Pecuária no Brasil – Relatório Anual 2015**, 2015a.

ABIEC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Rebanho Bovino Brasileiro**, 2015b.

AFERRI, G. **Desempenho e características da carcaça de novilhos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de gordura**. 2003. 49 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2003.

AKKÖSE, A.; AKTAS, N. Determination of glass transition temperature of beef and effects of various cryoprotective agents on some chemical changes. **Meat Science**, v.80, n. 3, p. 875-878, 2008.

ALLEN, J.C.; HAMILTON, R.J. **Rancidity in foods**. Elsevier Applied Science Publishers Ltd., 3th ed., p. 1-21, 1994.

ALMEIDA, F.A. **Qualidade da carne *in natura* e processada de cordeiros alimentados com grãos de girassol e vitamina E**. 2013. 102 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013.

ASGHAR, A.; GRAY, J.I.; BUCKLEY, D.J.; PEARSON, A.M.; BOOREN, A.M. Perspectives on warmed-over flavor. **Food Technology**, v.42, n. 6, p. 102-108, 1988.

BAGGIO, S.R. **Óxidos de colesterol, colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em produtos cárneos processados**. 2004. 199 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade de Campinas, 2004.

BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. The effect of heat treatment on the cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid contents of processed meat products. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 611-619, 2006.

BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. Validação da metodologia para determinação simultânea, por CLAE, de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 64-70, 2004.

BARROS, G. S. C.; BACCHI, M. R. P.; MIRANDA, S. H. G.; FILHO, J. V. C.; OSAKI, M. **Agronegócio Brasileiro: Perspectivas, desafios e uma agenda para seu desenvolvimento**. CEPEA, Centro de estudos avançados em economia aplicada, ESALQ, 2006.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; GRIINARI, J.M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 77, n, E-Suppl, p. 1-15, 2000.

BEAULIEU, A.D.; DRACKLEY, J.K.; MERCHEN, N.R. Concentrations of conjugated linoleic acid (*cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid) are not increased in tissue lipids of cattle

fed a high-concentrate diet supplemented with soybean oil. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 3, p. 847-861, 2002.

BÖSINGER, S.; LUF, W.; BRANDL, E. 'Oxysterol': Their occurrence and biological effects. **International Dairy Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-33, 1993.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de colesterol em carne suína e bovina e efeito do cozimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 1, p. 11-17, 1995.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de colesterol em carnes de frango. **Revista Farmácia e Bioquímica**, v. 28, n. 2, p. 122-131, 1992.

BRITO, M.S.; VILLAVICENCIO, A.L.C.; MANCINI-FILHO, J. Effects of irradiation on *trans* fatty acids formation in ground beef. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, p. 337-340. 2002.

BRITT, C.; GOMAA, E.A.; GRAY, J.I.; BOOREN, A.M. Influence of cherry tissue on lipid oxidation and heterocyclic aromatic amine formation in ground beef patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 12, p. 4891-4897, 1998.

CANTOR, A.H.; DECKER, E.A.; COLLINS, V.P. Fatty acids in poultry and egg products. **Fatty acids in foods and their health implications**, n. Ed. 2, p. 125-151, 2000.

CHOI, B.R., PALMQUIST, D.L. High fat diets increase plasma cholecystokinin and pancreatic polypeptide, and decrease plasma insulin and feed intake in lactating cows. **The Journal of Nutrition**, v. 126, n. 11, p. 2913-2919, 1996.

CHURCH, D.C. El rumiant, fisiología digestiva y nutrición. Editado por Church, D.C., 1993.

CODEX ALIMENTARIUS. Carne y Productos Carnicos. 2ª. Ed, v. 10, Roma, 1994.

COSTA, M.G. **Rações com diferentes fontes de gordura para vacas em lactação**. 2008. 140 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2008.

COSTA, R.G.; BATISTA, A.S.M; AZEVEDO, P.S.; QUEIROGA, R.D.C.R.D.; MADRUGA, M.S.; ARAÚJO FILHO, J.T.D. Lipid profile of lamb meat from different genotypes submitted to diets with different energy levels. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 3, p. 532-538, 2009.

CRACKEL, R.L.; GRAY, J.I.; PEARSON, A.M.; BOOREN, A.M.; BUCKLEY, D.J. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. **Food Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 187-196, 1988.

DAMODARAM, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O.R. Química de alimentos de Fennema. 4th Ed. Artmed, 2010.

DAVIS, C.; McMURRY, K.; McMURRY, M. American Heart Association 2010 Dietary Guidelines January 23, 2009.

DE LIMA, F.E.L.; MENEZES, T.N.; TAVARES, M.P.; SZARFARC, S.C.; FISBERG, R.M. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 2, p. 73-80, 2000.

DE LORGERIL, I.; RENAUD, S.; MAMELLE, N.; SALEN, P.; MARTIN, J.L.; MONJAUD, I.; GUIDALLET, J.; TOUBORIL, P.; DELAYE, J. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. **The Lancet**, v. 343, n. 8911, p. 1454-1459, 1994.

DE MEDEIROS BULLE, M.L.; RIBEIRO, F.G.; LEME, P.R.; TITTO, L.E.A.L.; LANNA, D.P.D. Desempenho de tourinhos cruzados em dietas de alto teor de concentrado com bagaço de cana-de-açúcar como único volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 444-450, 2002.

DE MEDEIROS, S.R. Valor nutricional da carne bovina e suas implicações para a saúde humana. **Embrapa gado de corte. Documentos**, 2008.

DE MENEZES, L.F.G.; RESTLE, J.; BRONDANI, I.L.; KOZLOSKI, G.V.; DESCHAMPS, F.; SACHET, R.H. Perfil de ácidos graxos na carne de novilhos Charolês e Nelore puros e de gerações avançadas do cruzamento rotativo, terminados em confinamento. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2478-2484, 2009.

DE SOUZA TAVARES, R.; DA CRUZ, A.G.; DE OLIVEIRA, T.S.; BRAGA, A.R.; DOS REIS, F.A.; DA HORA, I.M.C.; TEIXEIRA, R.C.; FERREIRA, E.F. Processamento e aceitação sensorial do hambúrguer de coelho (*Orytolagus cunicullus*). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 633-636, 2007.

DE OLIVEIRA, D.M. **Características de carcaça e qualidade da carne de novilhos zebuínos recebendo diferentes grãos de oleaginosas**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, n. 3, p. 593-607, 1999.

DEPARTMENT OF HEALTH. **Nutritional aspects of cardiovascular disease**. Report n health and social subjects n°46. HMSO, 1994.

DO VALLE, E. R. Mitos e realidades sobre o consumo de carne bovina. **Embrapa gado de corte. Documentos**, 2000.

DREHMER, A.M.F. **Quebra de peso das carcaças e estudo da vida de prateleira da carne suína**. 2005. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, 2005.

ECHARTE, M.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Consequences of microwave heating and frying on the lipid fraction of chicken and beef patties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, n. 20, p. 5941-5945, 2003.

ENGESETH, N.J.; GRAY, J.I. Cholesterol oxidation in muscle tissue, **Meat Science**, v. 36, n. 3, p. 309-320, 1994.

- ENSER, M.; SCOLLAN, N.D.; CHOI, N.J.; KURT, E.; HALLETT, K.; WOOD, J.D. Effect of dietary lipid on the content of conjugated linoleic acid (CLA) in beef muscle. **Animal Science**, v. 69, p. 143-146, 1999.
- FASSEAS, M.K.; MOUNTZOURIS, K.C.; TARANTILIS, P.A.; POLISSIOU, M.; ZERVAS, G. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. **Food Chemistry**, v. 106, n. 3, p. 1188–1194, 2008.
- FELTON, E.E.D.; KERLEY, M.S. Performance and carcass quality of steers fed different sources of dietary fat. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 6, p. 1794-1805, 2004.
- FERGUSON, L. R. Meat and cancer. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 308-313, 2010.
- FERNANDES, A.R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; HENRIQUE, W.; TULLIO, R.R.; OLIVEIRA, E.A.; SILVA, T.M. Composição química e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos de diferentes condições sexuais recebendo silagem de milho e concentrado ou cana-de-açúcar e concentrado contendo grãos de girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 4, p. 705-712, 2009.
- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.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.
- FRENCH, P.; O'RIORDAN, E.G.; MONAHAN, F.J.; CAFFREY, P.J.; MOLONEY, A.P. Fatty acid composition of intra-muscular triacylglycerols of steers fed autumn grass and concentrates. **Livestock Production Science**, v. 81, n. 2, p. 307-317, 2003.
- FRENCH, P.; STANTON, C.; LAWLESS, F.; O'RIORDAN, E.G.; MONAHAN, F.J.; CAFFREY, P.; MOLONEY, A.P. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 11, p. 2849-2855, 2000.
- GEORGANTELIS, D.; BLEKAS, G.; KATIKOU, P.; AMBROSIADIS, I.; FLETOURIS, D.J. Effect of Rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. **Meat Science**, v. 75, n. 2, p. 256-264, 2007.
- GONZÁLEZ, L.; MORENO, T.; BISPO, E.; DUGAN, M.E.R.; FRANCO, D. Effect of supplementing different oils: linseed, sunflower and soybean, on animal performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of veal from “Rubia Gallega” calves. **Meat Science**, v. 96, n. 2, p. 829-836, 2014.
- GONZALEZ-SANGUINETTI, S.; ANON, M.C.; CALVELO, A. Effect of thawing rate on the exudates production of frozen beef. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 3, p. 697-700, 1985.
- GORDON, M.H. Factors affecting lipid oxidation. **Understanding and measuring the shelf-life of food**, p. 128-140, 2004.

- GREENE, B.E.; CUMUZE, T.H. Relationship between TBA numbers and inexperienced panelists' assessments of oxidized flavor in cooked beef. **Journal of Food Science**, v. 47, n. 1, p. 52-54, 1982.
- GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y; NURMELA, K.V.V.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 – desaturase. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 9, p. 2285-2291, 2000.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 2, p. 205-215, 1996.
- HASSABALLA, A.Z.; MOHAMED, G.F.; IBRAHIM, H.M.; ABDETMAGEED, M.A. Frozen cooked catfish burger: Effect of different cooking methods and storage on its quality. **Global Veterinaria**, v. 3, n. 3, p. 216-226, 2009.
- HAUTRIVE, T.P.; MARQUES, A.C.; KUBOTA, E.H. Avaliação da composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos de cortes cárneos comerciais de avestruz, suíno, bovino e frango. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 327 – 334, 2012.
- HOGG, N.; KALYANARAMAN, B. Nitric oxide and lipid peroxidation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bionergetics**, v. 1411, n. 2, p. 378-384, 1999.
- HUBBARD, R;W; ONO, Y.; SANCHEZ, A. Atherogenic effect of oxidized products of cholesterol. **Progress in Food & Nutrition Science**, v. 13, n. 1, p. 17-44, 1989.
- HUR, S.J.; YE, B.W.; LEE, J.L.; HA, Y.L.; PARK, G.B.; JOO, S.T. Effects of conjugated linoleic acid on color and lipid oxidation of beef patties during cold storage. **Meat Science**, v. 66, n. 4, p. 771-775, 2004.
- IARC – International Agency for Research on Cancer/WHO – World Health Organization. IARC Monographs evaluate consumption of red meat and processed. Press Release n° 240, 2015.
- IMAI, H.; WERTHESSEN, N.T.; SUBRAMANYAM, V.; LEQUESNE, P.W.; SOLOWAY, A.H.; KANISAWA, M. Angiotoxicity of oxygenated sterols and possible precursors. **Science**, v. 207, n. 4431, p. 651-653, 1980.
- IMAI, H.; WERTHESSEN, N.T.; TAYLOR, C.B.; LEE, K.T. Angiotoxicity and atherosclerosis due to contaminants of USP – grade cholesterol. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v.100, n.11, p.565-572, 1976.
- JORGE, J.R.V.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.D.; SILVA, R.R.; ANDRADE, R.V.; PRADO, J.M.D.; BUBLITZ, E.E. Lipídios em dietas para novilhos holandeses: digestibilidade aparente. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, p. 743-753, 2008.
- JORGE, J.R.V.; ZEOULA, L.M.; PRADO, R.R.; SILVA, L.M.; ANDRADE, R.V.; MACEDO, L.M.A.; PRADO, J.M.; BUBLITZ, E.E.; MARQUES, J.A. Gordura protegida sobre o desempenho, carcaça e composição química da carne de novilhos holandês. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 223, p. 371-382, 2009.

JUÁREZ, M.; DUGAN, M.E.; AALHUS, J.L.; ALDAI, N.; BASARAB, J.A.; BARON, V.S.; McALLISTER, T.A. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 434-440, 2011.

KEPLER, C. R.; TUCKER, W.P.; TOVE, S.B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate Δ 12-cis, Δ 11-trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 245, n. 14, p. 3612-3620, 1970.

KEYS, A.; ANDERSON, J.T.; GRANDE, F. Serum cholesterol response to changes in the diet: IV. Particular saturated fatty acids in the diet. **Metabolism**, v. 14, n. 7, p. 776 – 787, 1965.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2ª edição. Ed. UFSM, 2009.

KRAMER, J.K.G.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.R.; SAUER, F.D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, n. 11, p. 1219-1228, 1997.

KRIS-ETHERTON, P.; FLEMING, J.; HARRIS, W.S. The debate about n-6 polyunsaturated fatty acid recommendations for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 110, n. 2, p. 201-204, 2010.

KUMAR, N.; SINGHAL, O.P. Cholesterol oxides and atherosclerosis: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 55, n. 4, p. 497-510, 1991.

LABORDE, F. L.; MANDELL, I.B.; TOSH, J.J.; WILTON, J.W.; BUCHANAN-SMITH, J.G. Breed effects on growth performance, carcass characteristics, fatty acid composition, and palatability attributes in finishing steers. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 2, p. 355-365, 2001.

LARKESON, B.; DUTTA, C.; HANSSON, I. Effects of frying and storage on cholesterol oxidation in minced meat products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 6, p. 675-680, 2000.

LERCKER, G.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T. Cholesterol oxidation: presence of 7-ketocholesterol in different food products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, n. 4, p. 625-631, 2000.

LOBATO, J.F.P.; FREITAS, A.K. Carne bovina: Mitos e verdades. **Pecuária Competitiva. São Paulo: FEDERACIT**, 2006.

LOTTENBERG, A.M.P. Importância da gordura alimentar na presença e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**, v. 53, n. 5, p. 595 – 607, 2009.

MACHADO, C.C.B; BASTOS, D.H.M.; JANZANTTI, N.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; FRANCO, M.R.B. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do

sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 513-518, 2007.

MACHADO, M.M. **Efeito do congelamento e estocagem sobre a qualidade da carne bovina**. 2009. 51 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

MACRAE, R.; ROBINSON, R.K.; SADLER, M.J. Encyclopedia of food science, food technology, and nutrition. Academic Press, v. 6, 3695-3699, 1993.

MAIA, M.O.; PARENTE, H.N.; ARAÚJO, V.M. Utilização de lipídeos na dieta de pequenos ruminantes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 14, n. 2, 2013.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Exportação**, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>. Consultado em: 28/12/2015.

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**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MAZALLI, M.R. **Efeito do processamento térmico e tempo de estocagem na formação de óxidos de colesterol e na alteração da composição de ácidos graxos em ovos**. 2006. 164 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2006.

MAZALLI, M.R.; SAWAYA, A.C.H.F., EBERLIN, M.N.; BRAGAGNOLO, N. HPLC method for quantification and characterization of cholesterol and its oxidation products in eggs. **Lipids**, v. 41, n. 6, p. 615-622, 2006.

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

MEDEIROS, S.R. **Ácido linoléico conjugado: Teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado**. 2002. 98 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2002.

MEDEIROS, S.R. Modulação do perfil lipídico de bovinos: implicações na produção e aceitação da carne. **V Simpósio Goiano sobre manejo e nutrição de bovinos de corte e leite**. Goiânia: CBNA, p. 43-72, 2003.

MIN, B.; CORDRAY, J.C.; AHN, D.U. Effect of NaCl, Myoglobin, Fe(II), and Fe(III) on Lipid Oxidation of Raw and Cooked Chicken Breast and Beef Loin. **Animal Industry Report**, v. 657, n. 1, p. 2, 2011.

MIR, P.S.; MIR, Z.; KUBER, P.S.; GASKINS, C.T.; MARTIN, E.L.; DODSON, M.V.; ELIAS CALLES, J.A.; JOHNSON, K.A.; BUSBOOM, J.R.; WOOD, A.J.; PITTENGER, G.J.; REEVES, J.J. Growth, carcass characteristics, muscle conjugated linoleic acid (CLA)

content, and response to intravenous glucose challenge in high percentage Wagyu, Wagyu x Limousin, and Limousin steers fed sunflower oil-containing diets. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 11, p. 2996-3004, 2002.

MONTEIRO, J.F. **Efeito da adição do óleo essencial de *Aloysia triphylla* na estabilidade oxidativa de hambúrgueres de carne bovina pré-cozinhados congelados**. 2013. 90 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Qualidade Alimentar) – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 2013.

MORALES-AIZPURÚA, I.C.; TENUTA-FILHO, A. Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, p. 431-442, 2002.

MOREIRA, K.K.G. Suplementação com lipídios em dietas de bovinos de corte. Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Goiás. 2011.

MOSHKIN, V. A. **Castor**. AA Balkema, 1986.

NICOLOSI, R.J.; STUCCHI, A.F.; KOWALA, M.C.; HENNESSY, L.K.; HEGSTED, D.M.; SCHAEFER E. Effect of dietary fat saturation and cholesterol on LDL composition and metabolism. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 10, n. 1, p. 119-128, 1990.

NOGUEIRA, G. C.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Alteração da relação $\omega 6/\omega 3$ de coxas de frango submetidas a diferentes métodos de cozimento. In: **Anais do XII Congresso Latino-Americano de Óleos e Gorduras. Florianópolis: Sección Latinoamericana de la American Oil Chemists Society**, p. 1-6, 2007a.

NOGUEIRA, G. C.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Relação entre o método de cozimento e a composição de ácidos graxos em peito de frango. : **Anais do XII Congresso Latino-Americano de Óleos e Gorduras. Florianópolis: Sección Latinoamericana de la American Oil Chemists Society**, p. 1-6, 2007b.

NOVELLI, E.; ZANARDI, E.; GHIRETTI, G.P.; CAMPANINI, G.; DAZZI, G.; MADARENA, G.; CHIZZOLINI, R. Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame Milano and mortadella. **Meat Science**, v. 48, n. 1, p. 29-40, 1998.

NOVELLO, D.; POLLONIO, M.A.R. Adição de linhaça dourada (*Linum Usitatissimum* L.) e derivados em hambúrgueres bovinos: aceitação sensorial e análise de sobrevivência. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 273-286, 2012.

NOVELLO, D.; POLLONIO, M.A.R. Teores de colesterol e oxidação lipídica em hambúrguer bovino com adição de linhaça dourada e derivados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 7, p. 805-808, 2013.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. **7th rev. ed**, p. 381, 2001.

NUERNBERG, K.; DANNENBERGER, D.; NUERNBERG, G.; ENDER, K.; VOIGT, J.; SCOLLAN, N.D.; WOOD, J.D.; NUTE, G.R.; RICHARDSON, R.I. **Livestock Production Science**, v. 94, n. 1, p. 137-147, 2005.

OLIVEIRA, R.L.; LADEIRA, M.M.; BARBOSA, M.A.A. F.; ASSUNÇÃO, D.M.P.; MATSUSHITA, M.; SANTOS, G.T. Ácido linoleico conjugado e perfil de ácidos graxos no músculo e na capa de gordura de novilhos bubalinos alimentados com diferentes fontes de lipídios. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 169-178, 2008.

ONO, K.; BERRY, B.W.; PAROCZAY, E. Contents and retention of nutrients in extra lean, lean and regular ground beef. **Journal of Food Science**, v. 50, n.3, p. 701-706, 1985.

OSADA, K.; HOSHINA, S.; NAKAMURA, S.; SUGANO, M. Cholesterol oxidation in meat products and its regulation by supplementation of sodium nitrite and Apple polyphenol before processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 3823-3829, 2000.

OSAWA, C.C.; FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655, 2005.

PAINE, F.A.; PAINE, H.Y. **A handbook of food packaging**. Springer Science & Business Media, 2012.

PARIZA, M.W.; PARK, Y.; COOK, M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v. 40, n. 4, p. 283-298, 2001.

PAULA, E.F.E.; MAIA, F.P.; CHEN, R.F. Óleos vegetais em nutrição de ruminantes. **Revista eletrônica Nutritime**, v. 9, n. 6, p. 2075-2103, 2012.

PEARSON, A.M.; GRAY, J.I.; WOLZAK, A.M.; HORENTEIN, N.A. Safety implication of oxidized lipid in muscle food. **Food Technology**, p. 121-129, 1983.

PENG, S.; HU, B.; MORIN, R.J. Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 5, n. 2, p. 144-152, 1991.

PENG, S.; TAYLOR, C.B. Cholesterol autoxidation, health and arteriosclerosis. A review on situations in developed countries. **Nutrition & Dietetics**, v. 44, p. 117-123, 1987.

PIE, J.E.; SPAHIS, K.S.; SEILLAN, C. Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 2, p. 250-254, 1991.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755, 2006.

RAMAMURTI, K. Effects of cooking, freezing and frozen storage on the fatty acid pattern of ground beef. **Lebensmittel-Wissenschaftund-Technologie**, v. 19, n.6, p. 477-481, 1986.

RIOUX, V.; LEMARCHAL, P.; LEGRAND, P. Mystiriac acid, unlike palmitic acid, is rapidly metabolized in cultured rat hepatocytes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.11, n. 4, p. 198-207, 2000.

ROCHA, J.S.R.; BARBOSA, V.M.; LARA, L.J.C.; BAIÃO, N.C.; CANÇADO, S.V.; LANA, A.M.Q.; POMPEU, M.A.; VASCONCELOS, R.J.C.; MACHADO, A.L.C.; MIRANDA, D.J.A.; FERNANDES, M.N.S.; MENDES, P.M.M. Efeito do armazenamento e da cantaxantina dietética sobre a qualidade do ovo fértil e o desenvolvimento embrionário. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 792-800, 2013.

RODRIGUES, V.C.; BRESSAN, M.C.; CARDOSO, M.D.G.; FREITAS, R.D. Ácidos graxos na carne de búfalos e bovinos castrados e inteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 2, p. 434-443, 2004.

RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T.; PENAZZI, G.; CABONI, M.F.; BERTACCO, G.; LERCKER, G. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburgers. **Meat Science**, v. 45, n. 3, p. 365-375, 1997.

ROSSATO, L.V.; BRESSAN, M.C.; RODRIGUES, E.C.; CAROLINO, M.D.C.; BESSA, R.J.B.; ALVES, S.P.P. Composição lipídica de carne bovina de grupos genéticos taurinos e zebuínos terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 9, p. 1841-1846, 2009.

ROWE, A.; MACEDO, F.A.F.; VISENTAINER, J.V.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M. Muscle composition and fatty acid profile in lambs fattened in drylot or pasture. **Meat Science**, v. 51, n. 4, p. 283-288, 1999.

SALIH, A.; PRICE, J.F.; SMITH, D.M.; DAWSON, L.E. Lipid oxidation in turkey meat as influenced by salt, metal cations and antioxidants. **Journal of Food Quality**, v. 12, n. 1, p. 71-83, 1989.

SANTOS, C.; HOZ, L.; CAMBERO, M.I.; CABEZA, M.C.; ORDÓÑEZ, J.A. Enrichment of dry-cured ham with α -linolenic acid and α -tocopherol by the use of linseed oil and α -tocopheryl acetate in pig diets. **Meat Science**, v. 80, n. 3, p. 668-674, 2008.

SANTOS, F.L.; SILVA, M.T.C.; LANA, R.D.P.; BRANDÃO, S.C.C.; VARGAS, L.H.; ABREU, L.R. Efeito da suplementação de lipídios na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição da gordura do leite de vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1931-1938, 2001.

SAS. USER'S GUIDE: **Basic and Statistic**. Cary: SAS, 1995. 1686p.

SÁYAGO-AYERDI, S. G.; BRENES, A.; GOÑI, I. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, v. 971-976, 2009.

SCHAEFER, D.M.; LIU, Q.; FAUSTMAN, C.; YIN, M.C. Supranutritional administration of vitamins E and C improves antioxidant status of beef. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6 Suppl, p. 1792-1798, 1995.

SCHEEDER, M.R.L.; CASUTT, M.M.; ROULIN, M.; ESCHER, F.; DUFEY, P.A.; KREUZER, M. Fatty acid composition, cooking loss and texture of beef patties from meat of bulls fed different fats. **Meat Science**, v. 58, n. 3, p. 321-328, 2001.

SCOLLAN, N.; HOCQUETTE, J.F.; NUERNBERG, K.; DANNENBERGER, D.; RICHARDSON, I.; MOLONEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 17-33, 2006.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, M.M.C.; RODRIGUES, M.T.; BRANCO, R.H.; RODRIGUES, C.A.F.; SARMENTO, J.L.R.; QUEIROZ, A.C.D.; SILVA, S.P.D. Suplementação de lipídios em dietas para cabras em lactação: consumo e eficiência de utilização de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 257-267, 2007.

SIMOPOULOS, A.P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 60, n. 9, p. 502-507, 2006.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the ratio of Omega-6/Omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 8, p. 365-379, 2002.

SMITH, L.L. Cholesterol Autoxidation. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 44, p. 87-125, 1987.

SNYDER, J.M.; FRANKEL, E.N.; SELKE, E. Capillary gas chromatographic analyses of headspace volatiles from vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 62, n. 12, p. 1675-1679, 1985.

SOUZA, N.E.; SILVA, R.R.; PRADO, I.M.; PRADO, J.M.; WADA, F.Y.; PRADO, I.N. Grãos de linhaça e canola sobre a composição do músculo *Longissimus* de novilhas confinadas. **Archivos de Zootecnia**, v. 56, n. 216, p. 863 – 874, 2007.

STAPLES, C.R. A suplementação de lipídios-ácidos graxos e implicações para reprodução/saúde animal Parte-1. **In: XIII Curso de Novos Enfoques na Reprodução e Produção de Bovinos**, 2009.

STONE, H., SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. Academic Press, 4th Ed, 2012.

TENUTA-FILHO, A.; MORALES-AIZPURÚA, I. C.; MOURA, A. F. P.; KITAHARA, S. E. Óxidos de colesterol em alimentos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 3, p. 319-325, 2003.

U.S.D.A. – United States Department of Agriculture, FAS – Foreign Agricultural Service. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**, 2015.

VERMA, S.P.; SAHOO, J. Improvement in the quality of ground chevon during refrigerated storage by tocopherol acetate preblending. **Meat Science**, v. 56, n. 4, p. 403-413, 2000.

VORE, V.R. TBA values and 7-ketocholesterol in refrigerated raw and cooked ground beef. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 4, p. 1058-1061, 1988.

VYNCKE, W. Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.). **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 77, n. 6, p. 239-240, 1975.

WADA, F.; DO PRADO, I.N.; SILVA, R.R.; MOLETTA, J.L.; VISENTAINER, J.V.; ZEOULA, L.M. Grãos de linhaça e canola sobre o desempenho, digestibilidade e qualidade da carcaça e da carne de novilhas nelore em confinamento. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4., p. 883-895, 2008.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO/FAO Joint Consultation: fats and oils in human nutrition. **Nutrition Reviews**, v. 53, n. 7, p. 202-205, 1995.

WONG, J. W.; HASHIMOTO, K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 10, p. 2707-2712, 1995.

ZARZYCKY, B.; SWINIARSKA, J. Whey as cryoprotective substance in storage of frozen ground cooked pork. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 12, n. 2, p. 105-113, 1993.

ZELMAN, K. The great fat debate: A closer look at the controversy – Questioning the validity of age-old dietary guidance. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 111, n. 5, p. 655-658, 2011.

ANEXO A – Certificado Comissão de Ética

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Produção de carne bovina com enfoque nos ácidos graxos: o entendimento da gordura e suas possíveis alterações", protocolado sob o nº 2324/2011, utilizando 84 (oitenta e quatro) bovinos, sob a responsabilidade do(a) Profa. Dra. Angélica Simone Cravo Pereira, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no Uso de Animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 17/8/2011.

We certify that the Research "Beef production with a focus on fatty acids: the understanding of fat and its possible changes", protocol number 2324/2011, utilizing 84 (eighty-four) cattle, under the responsibility Profa. Dra. Angélica Simone Cravo Pereira, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 8/17/2011.

São Paulo, 18 de agosto de 2011.

Denise Tabacchi Fantoni
Denise Tabacchi Fantoni
Presidente



Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fone: + 55 11 3091-7671/7676/0904
Fax: +55 11 3032-2224
E-mail: ceuavet@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

ANEXO B - Ficha de avaliação da análise sensorial

Nome: _____ Data: _____
 Ficha: _____

Você está recebendo uma amostra de **Hambúrguer**. Por favor, avalie o produto e marque na escala o quanto você gostou ou desgostou das seguintes características:

Número da amostra _____

	Nota	
ESCALA		
1 - Detestei		Comentários
2 - Desgostei muito		Comentários
3 - Desgostei moderadamente		Comentários
4 - Desgostei ligeiramente		Comentários
5 - Nem gostei/nem desgostei		Comentários
6 - Gostei ligeiramente		Comentários
7 - Gostei moderadamente		Comentários
8 - Gostei muito		Comentários
9 - Adorei		Comentários
Aroma		
Textura		
Suculência		
Sabor		
Aceitabilidade Global		

ANEXO C - Consentimento livre e esclarecido para pesquisa com seres humanos**PROJETO DE PESQUISA**

Perfil lipídico de hambúrgueres produzidos a partir de carne de bovinos alimentados com diferentes fontes de óleo na dieta

RESPONSÁVEL PELA PESQUISA: Anderson Roberto Cabral

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: O projeto tem como objetivo geral avaliar os efeitos de diferentes fontes de óleo vegetal na dieta de bovinos sobre características físicas, químicas e sensoriais de hambúrgueres provenientes da carne de bovinos alimentados com óleos de soja, girassol e linhaça.

PROCEDIMENTO: O provador terá, durante a execução do projeto, toda a liberdade para questionamento de qualquer dúvida e esclarecimento sobre a pesquisa a ser realizada, bem como poderá deixar de participar a qualquer tempo, sem prejuízos. A equipe deixa claro ao provador que não haverá qualquer risco com a sua participação na pesquisa, a menos que o provador tenha alergia a produtos cárneos, deverá ser informado previamente à equipe responsável pela pesquisa. Além disso, a equipe assegura que os dados de identidade fornecidos são sigilosos.

MEMBROS DA EQUIPE: Anderson Roberto Cabral, Fabiane de Souza Costa, Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva e Prof^a Dr^a Angélica Simone Cravo Pereira

Data ___/___/___

Assinatura do provador: _____

RG: _____