

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: METABOLISMO E NUTRIÇÃO

COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DAS CARNES DE FRANGO E GADO
NO RIO GRANDE DO SUL

JUSSARA CARNEVALE DE ALMEIDA

Porto Alegre, Dezembro de 2002.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: METABOLISMO E NUTRIÇÃO

COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DAS CARNES DE FRANGO E GADO
NO RIO GRANDE DO SUL

JUSSARA CARNEVALE DE ALMEIDA

Dissertação apresentada à UFRGS –
Faculdade de Medicina – programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas:
Endocrinologia – Área de Concentração:
Metabolismo e Nutrição, para obtenção
do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Gross - UFRGS

Co-Orientadora: Prof^a. Dra. Quim. Neura Bragagnolo - UNICAMP/SP

Porto Alegre, Dezembro de 2002.

À minha avó querida, *Ermelinda*
Carnevale, que sinto uma imensa
saudade.

Aos meus pais, Paulo e Rita, pelo
amor, doação, exemplos e conselhos. Por
acreditarem na minha capacidade e me
incentivarem sempre.

Ao Rodrigo Cericatto pelo amor,
suporte, paciência, estímulo em todos os
momentos.

Agradecimentos

Ao meu mestre, Prof. Dr. Jorge Luiz Gross, pelo convívio, sempre enriquecedor e estimulante. Pelas importantes oportunidades dadas, pelo incentivo, pela compreensão dos meus limites, pela enorme contribuição em meu crescimento profissional e pessoal, representando um grande exemplo de vida para mim.

À minha co-orientadora, Prof. Dra. Química Neura Bragagnolo, por mostrar-me que a distância não impede a proximidade, pelo acolhimento desde meus primeiros passos no caminho da análise de alimentos.

À Profa. Dra., Mirela Jobim de Azevedo, pela disponibilidade, paciência e auxílio em todos os momentos em que precisei, contribuindo de forma impecável para meu crescimento.

À Dra. Themis Zelmanovitz, pela amizade, disponibilidade e atenção que sempre me deu. Acompanhando-me passo-a-passo na busca da superação de minhas dificuldades.

À minha colega e amiga, Bioquímica Magda Susana Perassolo, pela sua dedicação e companheirismo em todos os momentos, desde a elaboração do projeto até os momentos finais do trabalho. Mostrando-me o verdadeiro significado de espírito de parceria e amizade.

À Bioquímica Joíza Lins Camargo, pelas valiosas contribuições na realização das análises de colesterol e no preparo do material escrito, sempre atenciosa, disponível e motivadora.

À Nutricionista Vanessa Derenji Mello, pela oportunidade do meu ingresso à pesquisa e pelas palavras e gestos de estímulo sempre que precisei.

À Nutricionista Juliana Vaz, pela sua dedicação e responsabilidade no cuidado com os pacientes, que tornou a finalização deste trabalho possível.

Ao Prof. Dr. José Luiz Rodrigues pela prestativa indicação e fornecimento de referências necessárias para as denominações de cortes e condições de criação do gado no Brasil.

À Dra. Luciana Costa com seu jeito amável, mas firme, mostrou-se sempre disposta em ajudar, principalmente ao encaminhar seus pacientes ao ambulatório.

Ao Dr. Luiz Henrique Canani, atencioso e solícito, sempre contribuindo generosamente com suas sugestões estatísticas.

Aos alunos de iniciação científica Miriam Bittencourt, Roberta dos Santos, Daniela Barata, Ronivan Luiz dal Prá, Felipe Ibanes Marques e Fabiano Bitelo Woloski, pela dedicação, esforço e colaboração no bom andamento da coleta de dados e realização dos protocolos, além da oportunidade de convívio na troca ensinar-aprender.

Aos demais Professores, colegas do laboratório de Biologia molecular, que contribuíram com sugestões, questionamentos e esclarecimento de dúvidas.

Às secretárias Rosângela Rodrigues, Rozelaine Mulling e Taís Quadros, que com suas aptidões e eficiências, mantêm o bom andamento do serviço.

Aos meus familiares, irmãos, primos, tios e avós, pelas palavras de apoio, pela compreensão da ausência, dos silêncios... Às minhas amigas Glaube, Débora e Sílvia, por serem quem são, sempre presentes, carinhosas e amigas.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste estudo, em especial aos pacientes.

Sumário

Lista de abreviaturas.....	07
Lista de tabelas.....	08
Lista de figuras.....	09
INTRODUÇÃO	10
Nefropatia Diabética: importância e patogênese	11
Papel dos lipídeos da dieta no perfil lipídico sérico	13
Colesterol dietético	13
Ácidos graxos saturados (AGS)	13
Ácidos graxos monoinsaturados (AGMI)	14
Ácidos graxos poliinsaturados n-6 (AGPI n-6)	14
Ácidos graxos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3)	15
Ácidos graxos insaturados <i>trans</i> -isômeros	16
Recomendações da <i>American Heart Association</i>	16
Métodos para avaliação da ingestão de alimentos	17
1. Inquéritos dietéticos	17
2. Tabelas de composição química dos alimentos	19
Justificativa	22
Objetivo	22
Referências	23
FATTY ACID COMPOSITION OF BEEF AND CHICKEN MEAT IN SOUTHERN BRAZIL	32
Footnotes	33
Abstract	34
Introduction	35
Materials and methods	36
Meats consumed by type 2 diabetic patients	36
Preparation of samples	37
Moisture and protein analyses	37
Cholesterol analysis	38
Fatty acid composition	38
Statistical analysis	39
Results	40
Chemical composition of raw meats	40
Fatty acid composition of raw meats	41
Discussion	43
Acknowledgments	46
References	47
ANEXOS	53
Registro Alimentar	57
Cromatogramas	58

Lista de Abreviaturas

AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
ANOVA	Análise de variância
DHA	Ácido graxo docosahexaenóico
DM	Diabete Melito
EPA	Ácido graxo eicosapentaenóico
HDL	“ <i>high-density lipoprotein</i> ”, lipoproteína de alta densidade
LDL	“ <i>low-density lipoprotein</i> ”, lipoproteína de baixa densidade
n-3	Família ômega 3
n-6	Família ômega 6
ND	Nefropatia Diabética
VLDL	“ <i>very-low density lipoprotein</i> ”, lipoproteína de muito baixa densidade

Lista de Tabelas

TABELA 1. Chemical composition (per 100g) of raw chicken and beef	51
TABELA 2. Fatty acid composition (mg/100g) of raw chicken and beef	52

Lista de Figuras

FIGURA 1. Comparison between enzymatic and HPLC cholesterol analysis methods (mg per 100g) in raw experimental foods.....	53
FIGURA 2. Comparison between experimental meats of fatty acid proportion (per cent).....	54

INTRODUÇÃO

Estudos de intervenção nutricional têm reforçado a restrição de consumo de ácidos graxos saturados (AGS) e colesterol dietéticos e o aumento do consumo de ácidos graxos essenciais, especialmente da família n-3, na redução de risco de doença cardiovascular (1). A nefropatia diabética (ND) está associada com o aumento da morbi-mortalidade cardiovascular em pacientes com DM tipo 2 (2,3,4,5). Além disso, a ND é a principal causa de ingresso em programas de substituição renal. Dos pacientes diabéticos que ingressam em programas de diálise, a maioria é de pacientes com diabetes melito (DM) tipo 2 (6).

Nefropatia diabética: importância e patogênese

Os mecanismos implicados na lesão renal progressiva envolvem alterações hemodinâmicas, metabólicas e morfológicas que estão, de algum modo, interrelacionadas. Os principais fatores relacionados à lesão glomerular, além da hiperglicemia são: dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial que levam à hipertensão glomerular, aumento da permeabilidade vascular, aumento da matriz extracelular, deposição lipídica e infiltração glomerular de macrófagos e monócitos (7).

O colesterol é um componente essencial das membranas celulares, além de ser o principal componente do cérebro e células nervosas. Também é um elemento-chave intermediário para a biossíntese de uma série de esteróides importantes, incluindo ácidos biliares, hormônios adrenocorticais, estrógenos, andrógenos e progesterona (8). Entretanto, níveis elevados de colesterol no sangue são um dos principais fatores de risco para doença arterial coronariana (9). Além disto, em pacientes com DM, o

colesterol sérico tem sido considerado um dos importantes fatores de risco para o desenvolvimento de ND (10). De fato, na presença de doença renal, com ou sem DM associado, são frequentes as anormalidades nos lipídeos séricos (11) caracterizados por aumento dos triglicerídeos séricos, LDL colesterol (*“low density lipoprotein”*, lipoproteína de baixa densidade) e diminuição do HDL colesterol (*“high density lipoprotein”*, lipoproteína de alta densidade) (12). Provavelmente, existe uma associação entre proteinúria, alterações do perfil lipídico e aterosclerose (11).

Os mecanismos relacionados às alterações lipídicas em pacientes diabéticos com ND podem ser atribuídos à presença da resistência insulínica, diminuição da lipase lipoprotéica e hábitos alimentares.

A resistência insulínica está presente de uma maneira geral nos pacientes com DM tipo 2 (13). A diminuição do efeito da insulina no tecido adiposo favorece o aumento da mobilização dos ácidos graxos livres. O maior aporte de ácidos graxos livres circulantes no fígado estimula a produção de lipoproteínas ricas em triglicerídeos. Devido a estas características, as partículas ricas em triglicerídeos apresentam modificações no seu metabolismo que levam a diminuição do HDL colesterol (14).

Em pacientes não diabéticos com insuficiência renal crônica, a redução da atividade da lipase lipoprotéica parece ser o mecanismo predominante na hipertrigliceridemia e nos baixos níveis de HDL (15). Relação semelhante encontrou-se em diabéticos tipo 2 com microalbuminúria, sugerindo que esta enzima tem um papel crítico na dislipidemia associada com o estágio precoce da ND (16,12).

Outra explicação seria a presença de hábitos alimentares que favoreceriam um perfil lipídico desfavorável. Neste sentido, existe a observação de que pacientes com DM tipo 1 que não apresentam ND e têm uma maior ingestão de AGS, possuem

um maior risco de desenvolvimento de microalbuminúria (17). Enquanto que, o consumo de uma dieta rica em peixe como fonte protéica diminui o risco para microalbuminúria em DM tipo 1 (18). Em pacientes com DM2 e microalbuminúria, quando se substituiu a carne vermelha por carne de frango, observou-se a diminuição da taxa de filtração glomerular, dos níveis de microalbuminúria juntamente com a diminuição dos níveis de colesterol e apolipoproteína B séricos nestes pacientes (19).

Papel dos ácidos graxos da dieta no perfil lipídico sérico

Colesterol dietético

O colesterol da dieta tende a ter um efeito menor sobre o colesterol sérico do que a ingestão de AGS (20) por causa do sistema endógeno de retroalimentação, que responde às ingestões dietéticas de colesterol regulando a síntese hepática. Os variados graus de saturação dos ácidos graxos influenciam os níveis de colesterol total, LDL e HDL (21,22).

Ácidos graxos saturados (AGS)

AGS não possuem duplas-ligações em sua cadeia hidrocarbônica. A ingestão destes ácidos graxos é um dos principais determinantes do colesterol sérico (21). Os níveis de colesterol total, HDL e LDL estão diretamente associados com o consumo de gordura saturada (20,23). A atividade do receptor hepático de LDL é geralmente o principal fator controlador das concentrações de LDL plasmática. Por sua vez, tanto o colesterol da dieta quanto os AGS tendem a suprimir a atividade deste receptor fazendo com que a depuração destas partículas fique diminuída e as concentrações séricas de colesterol aumentem a ponto de implicar risco aterogênico (24).

Propriedades aterogênicas são atribuídas ao ácido palmítico (C16), ácido mirístico (C14) e ácido láurico (C12), descritos em ordem de maior a menor efeito nas concentrações séricas de colesterol (9). O ácido palmítico, inclusive, torna-se ainda mais aterogênico quanto maior for o teor de colesterol na dieta (25). AGS com menos de 12 átomos de carbono não elevam os níveis séricos de colesterol (9). O papel exercido pelo ácido esteárico (C18) ainda não está bem definido, havendo opiniões controversas: Bonamone *et al.* (26) demonstraram que o ácido esteárico é tão efetivo quanto o ácido oléico (C18:1n-9) em diminuir os níveis séricos de colesterol quando qualquer um dos dois (ácido esteárico ou ácido oléico) substitui o ácido palmítico na dieta. É possível que isto ocorra devido à rápida dessaturação do ácido esteárico em ácido oléico.

Por outro lado, mais recentemente, Hu F.B. *et al.* (27) demonstraram, através de uma meta-análise, que o aumento de 1% da ingestão proveniente do ácido esteárico proporciona uma razão de risco para doença cardiovascular de 1,19 (IC 95%: 1,02-1,37).

Enquanto os AGS de origem animal apresentam-se como fatores dietéticos de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular, os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), particularmente o ácido oléico, mostram um efeito hipocolesterolêmico (25). Os AGMI, quando substituem os AGS, reduzem os níveis séricos de colesterol (28,29), em particular LDL (29), enquanto o HDL colesterol permanece inalterado (9).

Ácidos graxos monoinsaturados (AGMI)

AGMI são ácidos graxos insaturados, que possuem uma dupla-ligação na cadeia hidrocarbônica. Dietas ricas em AGMI reduzem, em indivíduos normais, as

concentrações séricas de LDL colesterol, de LDL oxidada e a proliferação de células musculares lisas de artérias coronárias humana em cultura (30). As membranas de tecidos que são ricas em AGMI são menos suscetíveis à oxidação por radicais livres que as membranas ricas em ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) (31), possivelmente porque o maior número de insaturações dos AGPI aumenta a probabilidade de oxidação.

Ácidos graxos poliinsaturados (AGPI)

Os AGPI possuem duas ou mais insaturações na molécula. A localização do carbono que possui a primeira dupla-ligação contando a partir do último grupo metil da molécula de ácido graxo (carbono ômega), indica a subclassificação ômega 6 ou 3 (n-6 e n-3). O principal AGPI n-6 é o ácido graxo essencial linoléico (18:2n-6), componente de membranas celulares e precursor do ácido araquidônico (20:4n-6), que possui importantes efeitos biológicos no organismo (9).

Os AGPI n-6 possuem efeito hipocolesterolemiantes quando substituem os AGS da dieta, reduzindo tanto LDL quanto HDL (9). No entanto, um alto consumo de AGPI n-6 favorece um estado pró-trombótico e pró-agregatório de plaquetas, caracterizado pelo aumento da viscosidade sanguínea, vasoespasmo, vasoconstrição e diminuição do tempo sangramento (1).

Eliminar AGS da dieta é duas vezes mais efetivo para reduzir os níveis séricos de colesterol do que aumentar AGPI (20). Segundo Yu-Poth S. *et al.* (32), que avaliaram os efeitos das intervenções dietéticas sugeridas pelo *National Cholesterol Education Program's Step I and Step II* (33) através de uma meta-análise, a diminuição de 1% de energia consumida proveniente de AGS diminui cerca de 2,16 mg/dL de colesterol total e 1,93 mg/dL de LDL.

O principal representante da família n-3 dos AGPI é o ácido graxo essencial α -linolênico (18:3n-3), precursor dos demais ácidos graxos da família n-3, pois é rapidamente convertido no organismo no ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5n-3) que pode ser alongado, dessaturado e β -oxidado no ácido docosahexaenóico (DHA; 22:6n-3). EPA e DHA, são encontrados principalmente em óleos de peixes marinhos e em pequenas doses (1 g/dia) reduzem efetivamente os níveis de triglicerídeos séricos (21,2% em 16 semanas), provavelmente pela inibição da síntese de VLDL colesterol (*“very-low density lipoprotein”*, lipoproteína de muito baixa densidade) (34). Efeitos de redução de LDL parecem estar relacionados com a redução de ingestão de AGS (35). Além das propriedades antiinflamatórias, antitrombóticas, antiarrítmicas, hipolipêmicas e vasodilatadoras (1), um alto consumo de ácidos graxos n-3 está associado a menor agregação plaquetária, menores níveis de pressão arterial e menor resposta imune (9).

AGPI n-6 e n-3 são os principais ácidos graxos para a produção de eicosanóides, como por exemplo, prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. Eicosanóides derivados de AGPI n-6 têm propriedades metabólicas opostas às dos provenientes de ácidos graxos n-3. Por isto é importante que a proporção de n-6 e n-3 seja equilibrada para a manutenção da saúde. Além disto, devido à competição entre as enzimas envolvidas na elongação e dessaturação dos ácidos linoléico e α -linolênico, esta proporção entre os AGPI essenciais torna-se crucial para o metabolismo normal (1). A razão ótima para n-6 e n-3 descrita por Schaefer E.J. (9) é de aproximadamente 4:1.

Ácidos graxos *trans*-isômeros

Ácidos graxos *trans*, estereoisômeros dos ácidos graxos *cis*, estão presentes, em pequenas quantidades nas carnes e seus produtos (incluindo os lácteos) e são resultantes da fermentação bacteriana nos animais ruminantes. Porém, são encontrados em maiores teores em alimentos industrializados - especialmente margarinas e gorduras vegetais hidrogenadas - resultantes do processo de hidrogenação catalítica das gorduras usado na indústria de alimentos. A hidrogenação é usada para produzir uma certa solidificação destes alimentos facilitando a sua manipulação industrial (25). No processo de hidrogenação, algumas das duplas ligações *cis* de ocorrência natural são convertidas à configuração *trans*. Foi observado que o consumo dos ácidos graxos *trans* (preferencialmente em relação à proporção de *cis*) é capaz de elevar o colesterol sérico (25) e aumentar a relação de LDL/HDL colesterol (36), assim como as concentrações da lipoproteína (a) (25), importante fator de risco para a aterosclerose (9).

Recomendações dietéticas

“*The American Heart Association*” recomenda que a distribuição de ácidos graxos da dieta seja: <7% de AGS, até 10% de AGPI, sendo 5% de ácidos graxos essenciais (1% da cadeia n-3), cerca de 10-15% de AGMI e a ingestão de colesterol dietético < 200 mg para pacientes diabéticos, dislipidêmicos e com doença cardiovascular (33).

As intervenções nutricionais podem apresentar dificuldade de aplicação na prática clínica, principalmente por exigirem mudança de hábitos alimentares associados ao estilo de vida dos indivíduos. A verificação da aderência ao tratamento dietético condiciona uma constante monitorização da ingestão alimentar do paciente, a

qual depende das informações fornecidas pelos mesmos. Para mensurar a quantidade e calorias, macro e micronutrientes ingerida pelo paciente utiliza-se um método para obter a informação dietética - o inquérito dietético - aliado às informações descritas em uma tabela de composição química dos alimentos (37).

Métodos para avaliação da ingestão de alimentos

1. Inquéritos dietéticos

Inquéritos são utilizados para obtenção da informação dietética de indivíduos e populações em um determinado período de tempo estabelecido previamente (37), podendo fornecer informações tanto qualitativas, quanto quantitativas. São necessários na prática clínica nutricional, tanto para avaliar inicialmente os hábitos alimentares quanto para verificar a aderência ao tratamento dietoterápico. Consistem de históricos dietéticos, recordatórios de 24 h, questionários de frequência de consumo alimentar, registros alimentares (por medidas caseiras ou com pesagem em balança dos alimentos) e diários alimentares. São comumente utilizados em estudos epidemiológicos e pesquisas clínicas para identificar a ingestão dietética individual (18,23,27,38,39).

Os questionários semiquantitativos de frequência alimentar não são suficientemente específicos para avaliar a ingestão alimentar, mas são úteis nos estudos relacionados à dieta habitual. Quanto aos registros alimentares, uma das limitações de sua utilização é a variação alimentar nos dias não registrados e a possibilidade de ocorrer sub-registro de alimentos por parte do informante (40).

Uma maneira de averiguar a fidedignidade das informações fornecidas nos registros alimentares é compará-las com marcadores biológicos específicos de

determinados nutrientes. Entretanto, para validar as informações obtidas através de métodos indiretos, estes marcadores devem ser sensíveis à ingestão alimentar (40).

Moulin C.C. *et al.* (39) mostraram que registros alimentares com pesagem exata de alimentos com balança e a medida da excreção urinária de uréia de 24 h para estimativa da excreção urinária de nitrogênio é um método acurado para avaliar a ingestão protéica de diferentes tipos de dietas em estudos com DM2 bem controlados. Para isto, é importante que haja um treinamento prévio, entrevista freqüente para motivação e correção dos registros alimentares.

Quanto à avaliação da ingestão de gorduras, marcadores específicos para o conteúdo de ácidos graxos dietéticos têm sido estudados. A composição dos ácidos graxos séricos em fosfolipídeos (41), livres ou ligados às lipoproteínas e no tecido adiposo (40,42) poderia refletir o tipo de gordura alimentar. Desta forma, alguns autores (40-42) sugerem que medidas destes ácidos graxos sejam empregadas como instrumentos de avaliação objetiva do tipo de gordura consumida pelo indivíduo. Entretanto, a utilização de biópsia de tecido adiposo como marcador bioquímico não é factível para estudos epidemiológicos ou com grande número de pacientes. Além disto, para análises dos ácidos graxos séricos (livres ou ligados a lipoproteínas) a rápida conversão dos ácidos graxos provenientes da dieta precursores de outros produzidos endogenamente (1) deve ser considerada.

Estudos clínicos controlados bem delineados (29,43-49) têm utilizado a análise química direta dos nutrientes ingeridos durante o período de intervenção (lipídios totais, colesterol e ácidos graxos, geralmente) para maior fidedignidade e acurácia da composição da dieta ingerida. As análises são feitas em duplicatas e coletadas semanalmente das refeições de cada dieta fornecida aos participantes do protocolo. Temme *et al.* (47) adicionaram, manualmente, a composição de ácidos graxos

dietéticos de alimentos locais analisados em cromatógrafo a gás ao programa utilizado para cálculo dos cardápios e dietas, com intuito de ter o máximo de aproximação da estimativa da composição real ingerida pelos participantes. Para a realização deste tipo de protocolo, a disponibilidade de um laboratório de alimentos, com técnicas internacionalmente comprovadas, torna-se necessária.

Comumente, os ácidos graxos em alimentos são analisados através de cromatografia gasosa de seus ésteres metílicos detectados por ionização em chama. O objetivo de uma análise cromatográfica de lipídios é a completa separação das classes de lipídios e espécies moleculares com o propósito de quantificar seus componentes e permitir a identificação por uma técnica adequada (25).

2. Tabelas de Composição Química dos Alimentos

O uso de uma tabela da composição química dos alimentos completa e atualizada torna-se imprescindível para uma adequada caracterização da ingestão dietética.

As tabelas internacionais disponíveis (49) são uma forte referência, devido ao grande número de alimentos e nutrientes analisados, assim como a organização dos dados. Porém, seu uso traz dificuldades de adequabilidade devido às diferenças regionais (clima, alimentação do animal, tipo de solo, cultura, produtos voltados ao mercado específico) e incertezas em traduções (forma de preparo, receitas e alimentos especiais) (50). Além disto, a não diferenciação pela USDA Handbook Agriculture (49) de alguns AGPI de cadeia n-3 e n-6, como o 18:3, 20:3 e 20:4 dificulta a estimativa da proporção de AGPI n-6:n-3.

As tabelas de uso corrente no Brasil necessitam de uma análise detalhada acerca da porção lipídica contida, pois se limitam, geralmente, às composições totais de gordura e colesterol (51, 52).

Existem poucos estudos que analisam a composição lipídica das carnes na América Latina. Vizcarrondo *et al.* (53) analisou por cromatografia gasosa a composição de ácidos graxos de alguns cortes frescos de gado, porco e frango e seus derivados processados com o intuito de identificar o perfil lipídico das principais carnes consumidas na Venezuela. Moraes *et al.* (54) realizaram um estudo comparativo da gordura de galinha d'angola (*Gaylord*), da galinha caipira (sem linhagem definida) e do frango de corte (*Arbor acre*). Os dados apresentados em ambos estudos encontram-se em percentagem do total de ésteres metílicos de ácidos graxos dificultando a quantificação ingerida comumente utilizada (mg por 100g de alimento). Análises de teores de colesterol em carnes cruas de frango (55) e carne suína e bovina - cruas e com o efeito do cozimento (56) foram feitos por Bragagnolo N. & Rodriguez-Amaya em 1992 e 1995.

A elaboração de um sistema nacional de base de dados da composição nutricional dos alimentos (com descrição dos procedimentos analíticos utilizados, dos critérios e forma de amostragem) tem sido aspiração dos profissionais ligados à alimentação e nutrição. Esforços têm sido realizados por alguns grupos na elaboração de programas como, por exemplo, o “Programa Integrado de Composição de Alimentos” ligados ao Brasil FOODS e ao Grupo de Trabalho Composição de Alimentos da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos – SBCTA para a organização deste banco de dados. Também há o Projeto de elaboração de uma Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO - coordenado pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA) e a Universidade Estadual de Campinas

(UNICAMP), que conta com o apoio da Área Técnica de Alimentação e Nutrição do Ministério da Saúde.

Justificativa

Recentemente, demonstrou-se que a substituição da carne de frango à carne vermelha em uma dieta normoprotéica tem efeitos positivos na função renal e nos níveis séricos de colesterol em pacientes com DM2 e microalbuminúria (18). Para tentar entender os mecanismos associados a este efeito benéfico, e devido à ausência de dados sobre a composição de ácidos graxos específicos das partes do frango mais consumidas pelos pacientes, decidiu-se analisar a composição de ácidos graxos dos principais cortes de carne de gado e frango consumidos na região sul do Brasil.

Objetivo

Analisar a composição de lipídeos, colesterol e ácidos graxos em cortes de carne de gado e frango mais consumidos pelos pacientes com DM2 na região sul do Brasil.

Referências Bibliográficas

1. Simopoulos, A.P. (1999) Essential Fatty Acids in Health and Chronic Disease, *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 560S-569S.
2. American Diabetes Association. Diabetes Complications in Diabetes (2001): Vital Statistics. *American Diabetes Association*®, Inc Alexandria, VA, USA.
3. Mogensen, C.E. (1984) Microalbuminuria Predicts Clinical Proteinuria and Early Mortality in Maturity Onset Diabetes, *N. Engl. J. Med.* 310, 356-60.
4. Klein, R., Klein, B.E.K., and Moss, S.E. (1991) The Incidence of Gross Proteinuria in People With Insulin-dependent Diabetes Mellitus, *Arch. Intern. Med.* 151, 1344-48.
5. Dinnen, S.F., and Gershein, H.C. (1997) The Association of Microalbuminuria and Mortality in Non-insulin-dependent Diabetes Mellitus, *Arch. Intern. Med.* 157, 1413-8.
6. Koch, M., Gradaus, F., Schoebel, F.C., Leschke, M., and Grabensee, B. (1997) Relevance of Conventional Cardiovascular Risk Factors for the Prediction of Coronary Artery Disease in Diabetic Patients on Renal Replacement Therapy, *Nephrol. Dial. Transplant.* 12, 1187-91.
7. Keane, W.F., Mulcah, W.S., Kasiske, B.L., Kim, Y., and O'donnell, M.P. (1991) Hyperlipidemia and Progressive Renal Disease. *Kidney Int.* 39, S41-S48.
8. Marks, D.B. (1996) Cholesterol Metabolism and the Blood Lipoproteins in *Basic Medical Biochemistry* (Marks, A.D., and Smith, C.M.), cap 34, pp. 525-544, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
9. Schaefer, E.J. (2002) Lipoproteins, Nutrition, and Heart Disease, *Am. J. Clin. Nutr.* 75, 191-212.

10. Krolewski, A.S., and Warram, J.H. (1997) Clinical Features and Epidemiology of Diabetic Nephropathy, in *Textbook of Diabetes*. John Pickup and Gareth Williams eds. Blackwell Science – 2nd edition, Oxford, 53.1-53.13.
11. Schmitz, P.G., Kasiske, B.L., O'donnell, M.P., and Keane, W.F.(1989) Lipids and Progressive Renal Injury, *Sem. in Nephrol.* 9, 354-69.
12. Hirano, T. (1999) Lipoprotein Abnormalities in Diabetic Nephropathy, *Kidney International*, 56, S22-S24.
13. Goldberg, I.J. (2001) Clinical Review 124, Diabetic Dyslipidemia: Causes and Consequences, *J. Clin. Endo. & Metabol.* 86, 965-971.
14. Diamond, J.R. (1991) Abalogous Pathobiologic Mechanisms in Glomerulosclerosis and Atherosclerosis, *Kidney* 39, S29-S34.
15. Kasiske, B.L., O'donell, M.P., Cowardin, W. and Keane, W.F. (1990) Lipids and the Kidney. *Hypertension* 15, 443-450.
16. Kashiwazaki, K., Hirano, T., Yoshino, G., Kurokawa, M., Tajima, H., and Adachi, M. (1998) Decreased Release of Lipoprotein Lipase Is Associated With Vascular Endothelial damage in NIDDM Patients With Microalbuminuria, *Diabetes Care* 21, 2016-2020.
17. Riley, M.D., and Dwyer, T. (1998) Microalbuminuria is Positively Associated with Usual Dietary Saturated Fat Intake and Negatively Associated with Usual Dietary Protein Intake in People with Insulin-dependent Diabetes Mellitus, *Am. J. Clin. Nutr.* 67, 50-57.
18. Möllsten, A., Dahlquist, G.G., Stattin, E., and Rudberg, S. (2001) Higher Intakes of Fish protein Are Related to a lower Risk of Microalbuminuria in Young Swedish Type 1 Diabetic Patients, *Diabetes Care* 24, 805-810.

19. Gross, J.L., Zelmanovitz, T., Moulin, C.C., Mello, V.D., Perassolo, M., Leitaó, C., Hoefel, A., Paggi, A., and Azevedo, M.J. (2002) Effect of a Chicken-based Diet on Renal Function and Lipid Profile in Patients with Type 2 Diabetes, *Diabetes Care* 25, 645-651.
20. Dietschy, J.M. (1998) Dietary fatty Acids and the Regulation of Plasma Low Density Lipoprotein Cholesterol Concentrations, *J. Nutr.* 128, 444S-448S.
21. Hegsted, D.M., Ausman, L.M., Johnson, J.A., and Dalla, G.E. (1993) Dietary Fat and Serum Lipids: an Evaluation of the Experimental Data, *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 875-883.
22. Mensink, R.P., and Katan, M.B. (1992) Effect of Dietary Fatty Acids on Serum Lipids and Lipoproteins: A Meta-analysis of 27 Trials, *Arterioscler. Thromb.* 12, 911-919.
23. Millen, B.E, Franz, M.M., Quatromon, P.A., Gagnon, D.R., Sonnenberg, L.M., Orddovas, J.M., Wilson, P.W.F., Schaefer, E.J., and Cupples, A. (1996) Diet and Plasma Lipids in Women. I. Macronutrients and Plasma Total and Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Women: The Framingham Nutrition Studies, *J. Clin. Epidemiol.* 49, 657-663.
24. Spady, D.K. (1999) Dietary Fatty Acids and Atherosclerosis Regression, *Br. J. Nutr.* 82, 337-338.
25. Curi, R., Pompéia, C., Miyasaka, C.K., and Procópio, J. (2002) Entendendo a Gordura, os Ácidos Graxos, 1^a. ed. Bras., pp. 546-547, *Manole*, São Paulo, SP.
26. Boamone, A., and Grundy, S. (1988) Effect of Dietary Stearic Acid on Plasma Cholesterol and Lipoprotein Levels, *N. Engl. J. Med.* 318, 1244-1248.
27. Hu, F.B., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Ascherio, A., Colditz, G.A., Speizer, F.E., Hennekens, C.H., and Willett, W. (1999) Dietary Saturated Fats and Their Food

Sources in Relation to the Risk of Coronary Heart Disease in Women, *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 1001-1008.

28. Williams, C.M., Francis-Knapper, J.A., Webb, D., Brookes, C.A., Zampelas, A., Tredger, J.A., Wright, J., Meijer, G., Calder, P.C., Yaqoob, P., Roche, H., and Gibney, M.J. (1999) Cholesterol Reduction Using Manufactured Foods High in Monounsaturated Fatty Acids: a Randomized Crossover Study, *Br. J. Nutr.* 81, 439-446.

29. Kris-Etherton, P.M., Pearson, T.A., Wan, Y., Hargrove, R.L., Moriarty, K., Fishell, V., and Etherthon, T.D. (1999) High-Monounsaturated Fatty Acid Diets Lower Both Plasma Cholesterol and Triacylglycerol Concentrations, *Am J Clin Nutr* 70, 1009-1015.

30. Mata, P., Varela, O., Alonso, R., Lahoz, C., Oya, M., and Badimon, L. (1997) Monounsaturated and Polyunsaturated n-6 Fatty Acid-Enriched Diets Modify LDL Oxidation and Decrease Human Coronary Smooth Muscle Cell DNA Synthesis, *Arterios. Thromb. Vas. Biol.* 17, 2088-2095.

31. Bonamone, A., Pagnana, A., Biffanti, S., Oportuno, A., Sorgato, F., Dorella, M., Maiorino, M., and Ursini, F. (1992) Effect of Dietary Monounsaturated and Polyunsaturated Fatty Acids on the Susceptibility of Plasma Low-density Lipoproteins to Oxidative Modification, *Arteriosc. Thromb. Vasc. Biol.* 12, 529-533.

32. Yu-Poth, S., Zhao, G., Etherton, T., Naglak, M., Jonnalagadda, S., and Kris-Etherton, P.M. (1999), Effects of the National Cholesterol Education Program's Step I and Step II Dietary Intervention Programs on Cardiovascular Disease Risk Factors: a Meta-analysis, *Am. J. Clin. Nut.* 69, 632-646.

33. Krauss, R.M., Eckel, R.H., Howard, B., Appel, L.J., Daniels, S.R., Deckelbaurn, R.J., Erdman, J.W., Kris-Etherton, P., Goldberg, I.J., Kotchen, T.A.,

- Lichtenstein, A.H., Mitch, W.E., Mullis, R., Robinson, K., Wylie-Rosett, J., Jeor, S.St., Suttie, J., Tribble, D.L., and Bazzare, T.L. (2001) Revision 2000: A Statement for Healthcare professionals From the Nutrition Committee of the American Heart Association, *J. Nutr.* 131, 132-146.
34. Roche, H.M., and Gibney, M.J. (2000) Effect of Long-chain n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Fasting and Postprandial Triacylglycerol Metabolism, *Am. J. Clin. Nutr.* 71, 232S-237S.
35. Grundy, S.M., and Denke, M.A. (1990) Dietary Influences on Serum Lipids and Lipoproteins, *J. Lipid Res.* 31,1149-1172.
36. Ascherio, A., Katan, M.B., Zock, P.L., Stampfer, M.J., and Willett, W.C. (1999) Trans Fatty Acids and Coronary Disease, *N. Engl. J. Med.* 340, 1994-1998.
37. Willet, W. (1998) *Nutritional Epidemiology*, 2^a. ed, pp. 514, Oxford University Press, New York.
38. Toeller, M., Buyken, A., Heitkamp, G., Klischan, A., Gries, F.A. and the EURODIAB IDDM Complications Study Group (1997) Repeatability of three-day dietary records in the EURODIAB IDDM Complications Study, *Eur. J. Clin. Nutr.* 51, 74-80.
39. Moulin, C.C., Tiskievicz, F., Zelmanovitz, T., Oliveira, J., Azevedo, M.J., and Gross, J.L. (1998) Use of Weighed Diet Records in the Evaluation of Diets with Different Protein Contents in Patients with Type 2 Diabetes, *Am. J. Clin. Nutr.* 67, 853-857.
40. Andersen, L.F., Solvoll, K., Johansson, L.R.K, Salminen, I., Aro, A., and Drevon, C.A. (1999) Evaluation of Food Frequency Questionnaire with Weighed Records, Fatty Acids, and Alpha-Tocopherol in Adipose Tissue and Serum, *Am. J. Epidemiol.* 150, 75-85.

41. Kobayashi, M., Sasaki, S., Kawabata, T., Hasegawa, K., Akabanne, M., and Tsugane, S. (2000) Single Measurement of Serum Phospholipid Fatty Acid as a Biomarker of Specific Fatty Acid Intake in Middle-aged Japanese Men, *Eur. J. Clin. Nutr.* 55, 643-650.
42. Tjønneland, A., Overvad, K., Thorling, E., and Ewertz, M. (1993) Adipose Tissue Fatty Acids as Biomarkers of Dietary Exposure in Danish Men and Women, *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 629-633.
43. Ginsberg, H.N., Barr, S.L., Gilbert, A., Karmally, W., Deckelbaum, R., Kaplan, K., Ramakrishnan, R., Holleran, S., and Dell, R.B. (1990) Reduction of Plasma Cholesterol Levels in Normal Men on an American Heart Association Step I Diet or Step I Diet with added Monounsaturated Fat, *N. Engl. J. Med.* 322, 574-579.
44. Mensink, R.P., and Katan, M.B. (1990) Effect of Dietary Trans Fatty Acids on High-density and Low-density Lipoprotein Cholesterol Levels in Healthy Subjects, *N. Engl. J. Med.* 323, 439-445.
45. Denke, M.A., and Grundy, S.M. (1992) Comparison of Effects of Lauric Acid and Palmitic Acid on Plasma Lipids and Lipoproteins, *Am. J. Clin. Nutr.* 56, 895-898.
46. Lichtenstein, A.H., Ausman, L.M., Jalbert, S.M., Scafefer, E.J. (1999) effects of different forms of dietary hydrogenated fats on serum lipoprotein cholesterol levels, *N. Engl. J. Med.* 340, 1933-40.
47. Temme, E.H.M., Mensink, R.P., and Hornstra, G. (1999) Effects Of Diets Enriched in Lauric, Palmitic or Oleic Acids on Blood Coagulation and Fibrinolysis, *Thromb Haemost* 81, 2259-263.
48. Jansen, S., López-Miranda, J., Castro, P., López-Segura, F., Marín, C., Ordovás, J.M., Paz, E., Jiménez-Perepérez, J., Fuentes, F., and Pérez-Jiménez, F. (2000) Low-fat and High-monounsaturated Fatty Acid Diets Decrease Plasma

Cholesterol Ester Transfer Protein Concentrations in Young, Healthy, Normolipemic Men, *Am. J. Clin. Nutr.* 72, 36-41.

49. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2001) USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 14, Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>

50. Charzewska, J. (1994) Gaps in Dietary-survey Methodology in Eastern Europe, *Am. J. Clin. Nutr.* 59, 157S-160S.

51. Estudo Nacional da Despesa Familiar-ENDEF (1977) Tabelas de composição de alimentos, Secretaria da Presidência da República, Fundação *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*, xp, RJ.

52. Franco, G. (1999) Tabela de Composição Química dos Alimentos, 9^a edição, pp108-290, *Atheneu*, SP-RJ.

53. Vizcarrondo, C.A., Padilha, F.C., and Martin, E.G (1998) Fatty Acid Composition of Beef, Pork and Poultry Fresh Cuts and Some of their Processed Products, *Arch. Latinoamer. Nutr.* 48, 354-358.

54. Moraes, M.C, Barroso, M.A., Zapata, J.F.F, and Fuentes, M.F.F. (1987) Estudo Comparativo da Gordura de Capote, Galinha Caipira e Frango-de-granja, *Bol. SBCTA, Campinas* 21, 15-24.

55. Bragagnolo, N., and Rodriguez-Amaya, D. (1992) Teores de colesterol em carnes de frango, *Rev. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo* 28, 1222-131.

56. Bragagnolo, N., and Rodriguez-Amaya, D. (1995) Teores de colesterol em Carne Suína e Bovina e Efeito do Cozimento, *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 15, 11-17.

ARTIGO

Fatty Acid Composition of Beef and Chicken Meat in Southern Brazil

Jussara Carnevale de Almeida,¹

Magda Susana Perassolo¹

Joíza Lins Camargo²

Neura Bragagnolo³

Jorge Luiz Gross¹

¹Serviço de Endocrinologia. ²Serviço de Patologia Clínica, Unidade de Bioquímica. Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

³Departamento de Ciências de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

This study was partially supported by Projeto de Núcleos de Excelência do Ministério de Ciência e Tecnologia (PRONEX) and scholarships from Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) (J.C.A. and M.S.P.).

Mailing address: Prof Dr Jorge Luiz Gross Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4^o andar, 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil Phone 5551-3332 5188, fax 5551-3316 8777 E-mail: jorgegross@terra.com.br

Running title: Fatty acid composition of beef and chicken

Key-words: chicken, beef, fatty acid , polyunsaturated, saturated, gama-linolenic.

ABSTRACT: The aim of this study was to analyze the fatty acid composition of the beef and chicken cuts most often consumed by a population of type 2 diabetic patients in southern Brazil: for beef, *semimembranosus* and *biceps femoris*; and for chicken, drumstick and thigh. Three different brands of these raw cuts were analyzed in duplicate. The results were compared with data extracted from the United States Department of Agriculture (USDA) Handbook. Chicken meat had a lower proportion of saturated ($36.4 \pm 3.6\%$; $P < 0.001$) and a higher proportion of polyunsaturated fatty acids ($21.3 \pm 3.5\%$; $P < 0.0001$) than beef (53.3 ± 2.12 and $3.0 \pm 0.5\%$). Long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) EPA and DHA were observed only in dark chicken meat (23 ± 3 and 14 ± 1 mg/100g, respectively) and were found in not presented (less than 0.1 mg/100g) amounts in beef cuts. The amount of gamma and alpha linolenic acids in *biceps femoris* ($39/22$ mg/100g) was higher than in dark chicken meat ($1/25$ mg/100g). A discrepancy was observed between the composition of the experimental meats and those reported in the USDA Handbook, mainly for beef. Total lipid content as well as PUFA and MUFA levels were lower than the values reported in the USDA Handbook (26.5, 49 and 25% difference than USDA values, respectively) for beef. In conclusion, chicken presents a more favorable fatty acid profile regarding serum cholesterol levels than beef cuts. Furthermore, the discrepancies observed between our experimental data and the USDA Handbook suggest that it is important to construct regional food composition tables.

Footnotes

Correspondence to Jussara Carnevale de Almeida.

Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar

90035-003, Porto Alegre, RS

Brasil

Fax: +55-51-3316-8777

E-mail: jussaracarnevale@terra.com.br

Abbreviations: Gas-liquid chromatography, GLC; High-Performance Liquid Chromatography, HPLC; Monounsaturated Fatty Acid, MUFA; Omega 3, n-3; Omega 6, n-6; Omega 9, n-9; Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA; Saturated Fatty Acid, SFA; United States Department of Agriculture, USDA.

INTRODUCTION

Microalbuminuria is a risk factor for cardiovascular disease in type 2 diabetic patients due to the aggregation of several elements, such as high blood pressure, dyslipidemia and endothelial dysfunction (1). Usually, these patients are treated with a combination of drugs, including anti-hypertensive and hypolipidemic agents and renin-angiotensin system blockers [angiotensin-converting enzyme inhibitors and/or angiotensin II blockers]. However, due to the costs and side effects of drug therapy, a significant proportion of patients do not comply with treatment.

Nutritional intervention may be an advantageous alternative to drug therapy. It has been recently demonstrated that replacement of red meat with chicken is associated with a significant decrease in apolipoprotein B and total cholesterol levels in microalbuminuric type 2 diabetic patients (2). This effect is probably related to the higher polyunsaturated fatty acid (PUFA) content of chicken meat in comparison to beef.

The beneficial effects of PUFA depend on the ratio of the fatty acid omega 6 (n-6) to omega 3 (n-3); it is generally accepted that the ideal proportion of n 6 to n 3 is around 4:1. However, the current ratio in the usual Western diet ranges from 20 to 30:1, which may favor a prothrombotic and proaggregatory state (3). Therefore, knowledge concerning the exact fatty acid composition of the meat consumed by different populations, and especially by type 2 diabetic patients, is extremely important.

The fatty acid content of different meats might be influenced by a wide variety of factors, including animal breed, external and internal fat levels, climate, and breeding, feeding and rearing conditions (4). These factors may vary according to the region where animals are raised and according to cultural practices. Furthermore, the

current reference tables of food composition are based on data generated many years ago – 1979 for poultry (5) and 1990 for beef products (6) – before the marked improvement on feeding technology. Moreover, in the case of the United States Department of Agriculture (USDA) Handbook SR-14, for example, no difference is made between several n-6 and n-3 fatty acids: 18:3, 20:3, 20:4 (7). Consequently, it is not possible to estimate the ratio of n-6 and n-3 PUFA in meat based on USDA tables.

The aim of the present study was to analyze the fatty acid composition of the beef and chicken cuts most often consumed by type 2 diabetic patients in Porto Alegre, a major city in southern Brazil.

MATERIALS AND METHODS

Meats Consumed By Type 2 Diabetic Patients

The meats most often consumed by the diabetic patients at the endocrinology outpatient clinic at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brazil were determined as previously described, based on interviews and training in the technique of 3-day weighed diet records (8). A sample of type 2 diabetic patients were selected. Only patients with a concordance of less 70% between the recorded protein intake and the values estimated by 24-h urinary nitrogen excretion were included. As a result seventy-four patients were selected for the present study.

The average meat intake per person was 167 ± 84 g per day. Beef accounted for 58% of the weekly consumption of meat; chicken accounted for 30%; fish for 6%; pork for 5%; and mutton for 1%.

The main beef cuts consumed were tip round (*semimembranosus* and *biceps femoris* muscle 35%), ribs (25%), choice meat (20%), quality meat (13%), sausage, bologna and beef ham (7%). Dark chicken meat (thigh and drumstick) was the most

consumed cut (64%), followed by breast meat (29%), chicken sausage and bologna (5%), wings and back (2%).

Based on the meat intake in this pilot population, we chose to analyze the fatty acid content of *semimembranosus* and *biceps femoris* beef cuts and chicken thigh and drumstick.

Preparation Of Samples

Three different brands of chicken meat, and beef from three different sources were purchased at a supermarket. Each sample was hand-boned (chicken) and dissected from the fat surface, and the lean part was then finely minced. Each raw sample was analyzed in duplicate. The cholesterol analysis was conducted in triplicate.

Moisture and protein analyses

Dry matter was obtained from each piece of meat by drying samples in an oven for 20 h at 105 °C (method 950.46 described in reference 9). The protein content was calculated as nitrogen amount multiplied by 0.625 per 100 g of meat. The nitrogen content was determined by the Kjeldahl procedure [method 928.08 described in reference 9).

Cholesterol Analysis

Step 1 - Saponification: About 2g of each sample were saponified according to a modified version of the method described by Stewart *et al.* (10), with 4 mL of 50% potassium hydroxide and 6 mL of 95% ethanol absolute heated for complete solubilization at 40 °C, and then heated for 10 min at 60 °C. After this, 5 mL of water were added and the sample were cooled. The non-saponifiable fraction was extracted three times using 10 mL of hexane. Aliquots of hexane extracts (3 mL) were dried under a nitrogen flow.

Step 2 – Cholesterol Measurement: After saponification, samples were analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) or enzymatic methods.

HPLC: The extract was dissolved again in 3 mL of acetonitrile-isopropanol solution (70:30, v/v) and 1 μ L was injected into HPLC (11). The HPLC apparatus consisted of a SHIMADZU[®] system including a ternary solvent delivery system (LAD 10); a Rheodyne 20 μ L loop injector with column temperature of 30 °C; ultraviolet detector; and software (CLAS-VP 10) for data processing. A Lichrospher 5RP18 150 x 4.6 mm analytical column was employed, including a holder with guard column (Chrompack[®], The Netherlands). The mobile phase (flow rate = 1 mL/min) consisted of acetonitrile and isopropanol (70:30, v/v). The resulting chromatograms were processed at 210 nm.

Cholesterol identification was performed by co-chromatography and by comparing sample retention times with standard retention times (Sigma and Polyscience, U.S.A.[®] C8667). Quantification for each sample was achieved by internal standardization (0.504 mg of 6-ketocholestanol, Sigma and Polyscience, U.S.A.[®] K1250) after saponification. The response factors were calculated daily during the sample period.

Enzymatic method: The extract was diluted in 0.2 ml of isopropyl alcohol and analyzed with an enzymatic kit (Merck[®] Diagnostica, Darmstadt, Germany) adapted to the Cobas Mira Roche[®] auto-analyzer.

Fatty Acid Composition:

Step 1 – Lipid Extraction: The lipids were extracted according to Folch *et al.* with a chloroform-methanol mixture (2:1, by 200 mL) (12). Four 10 mL aliquots were saved for the next steps.

Step 2 – Total Lipid Determination: The total lipid content was determined gravimetrically on an analytical scale (Marte[®], precision of 0.001g).

Step 3 – Fatty Acid Identification: Aliquots of the lipid extract were esterified with BF₃-methanol (13). The fatty acid composition of each aliquot was determined by gas chromatography on a 60 m fused capillary column with an internal diameter of 0.20 μm (CP Sil 88). The analysis was performed on a Hewlett-Packard 6890[®] gas chromatograph equipped with a flame ionization detector. Helium was used as carrier gas and nitrogen as make-up gas. The injection port temperature was 200 °C and the detector temperature was 250 °C. Oven temperature was ramped to 150 °C for 3 min and increased to 160 °C at 1.5 °C/min; it was then held at 160 °C for 3 min, increased to 190 °C at 1.5 °C/min, and held at 190 °C for 1min. Finally, temperature was increased to 220 °C at 1 °C/min.

A Hewlett Packard computing integrator calculated retention times and peak area percentages. Fatty acids were identified by comparing sample retention times with standard retention times (36 saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acid standards, Sigma and Polyscience, U.S.A.[®]). Quantification was carried out by normalization and transformation of the area percentage to mg per 100g of edible portion, using the lipid conversion factor of Holland (14).

STATISTICAL ANALYSIS

Data were analyzed with the following parametric tests: ANOVA and one-sample *t*-test for comparison between experimental values and those published in the USDA Handbook SR-14 (7). Non-parametric data were logarithm transformed before statistical analysis. Values were expressed as means ± standard deviation (SD).

Significance was defined at $P < 0.05$. The SPSS software (Chicago, IL) was used for all analyses.

RESULTS

Chemical Composition Of Raw Meats

Moisture, protein, fat and cholesterol content of raw meats are described in Table 1. Moisture was higher in dark chicken meat than in beef. The *semimembranosus* cut presented higher moisture content than the *biceps femoris* cut. In general, the moisture of experimental meats was higher than that reported in the USDA Handbook: 3.2% higher for *semimembranosus* (74.48 ± 1.08 vs. 72.20 g/100g), 10.4% for *biceps femoris* (72.48 ± 1.57 vs. 64.92 g/100g) and 2.0% for dark chicken meat (77.49 ± 1.04 vs 75.99 g/100g) ($P < 0.01$).

The protein content of beef was higher than that of dark chicken meat. The protein content of *biceps femoris* (20.97 ± 0.04 g/100g) was 8.6% higher than the value listed in the USDA Handbook (19.31 g/100g; $P = 0.012$). On the other hand, the protein content of dark chicken meat (18.83 ± 0.09 g/100g) was 6.2% lower than USDA values (20.08 g/100g; $P = 0.0001$). The protein content of *semimembranosus* was similar to USDA values (21.17 ± 0.16 vs. 21.11 g/100g).

The lipid content of *biceps femoris* was higher than that of *semimembranosus* and dark chicken meat. On the other hand, dark chicken meat presented higher lipid values than *semimembranosus*. The observed lipid content in both beef cuts were 26.5% lower as compared with the values listed in the USDA Handbook, i.e., 3.08 ± 0.07 vs. 3.80 g/100g for *semimembranosus* ($P < 0.003$) and 8.75 ± 1.12 vs. 13.19 g/100g ($P < 0.021$) for *biceps femoris*. No difference was observed concerning the lipid

content of chicken dark meat (4.08 ± 0.60 for experimental samples vs. 4.31 g/100g in the USDA Handbook).

Cholesterol levels measured by the enzymatic method were higher than those measured by the HPLC method: 17% in *semimembranosus* (60.63 ± 2.33 vs. 51.97 ± 1.40 mg/100g), 17.5% in chicken drumsticks (104.31 ± 6.34 vs. 86.09 ± 3.34 g/100g) and 29.3% in chicken thighs (98.82 ± 7.85 vs. 76.44 ± 2.49 mg/100g); $P < 0.03$. No difference was observed in the cholesterol values obtained by the two methods for *biceps femoris* (63.02 ± 3.62 vs. 63.44 ± 3.75 mg/100g) (Figure 1). The variability of cholesterol values was higher with the enzymatic method than with the HPLC method. The coefficients of variation for cholesterol measurements were below 4% for HPLC and below 6% for the enzymatic method. This discrepancy was more evident when chicken meat was analyzed (3.6 vs. 7.0%).

Regarding the cholesterol content as measured by HPLC, it was observed that dark chicken meat presented higher cholesterol levels than beef cuts. The cholesterol content of *biceps femoris* was higher than that of *semimembranosus*. When the experimental data were compared with USDA information, the observed cholesterol content of *semimembranosus* was 14% lower than USDA values (51.97 ± 1.40 vs. 60 mg/100g; $P = 0.01$). However, the cholesterol content of dark chicken meat and *biceps femoris* was similar to USDA values: 80.30 ± 2.83 vs. 80 mg/100g for dark chicken meat and 63.02 ± 3.62 vs. 65 mg/100g for *biceps femoris*.

Fatty Acid Composition Of Raw Meats

The fatty acid values obtained in the experimental meats are described in Table 2. No *trans* fatty acid isomers were identified in the experimental meats. Total saturated fatty acid (SFA) contents were approximately three times higher in *biceps femoris* than in *semimembranosus* and dark chicken meat. This was particularly

evident in relation to palmitic acid (16:0). Myristic acid (14:0) and stearic acid (18:0) values were also higher in *biceps femoris* as compared to *semimembranosus* and dark chicken meat, and higher in *semimembranosus* than in dark chicken meat. The levels of monounsaturated fatty acids (MUFA), palmitoleic acid (16:1n-7) and oleic acid (18:1n-9) were higher in *biceps femoris* than in *semimembranosus* and dark chicken meat, and also in dark chicken meat as compared to *semimembranosus*. Total PUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA, and linoleic acid (18:2n-6) contents were higher in dark chicken meat as compared to beef. The total PUFA content was higher in *biceps femoris* as compared to *semimembranosus*. The very long chain n-3 PUFA EPA (22:5n-3) and DHA (22:6n-3), were observed only in dark chicken meat (23 ± 3 and 14 ± 1 mg/100g, respectively). The amount of these fatty acids in beef cuts was not presented (less than 0.1 mg/100g). The proportion of gamma (18:3n-6) and alpha linolenic (18:3n-3) fatty acids in the *biceps femoris* cut (39/22 mg/100g) was higher than in dark chicken meat (1/25 mg/100g) (Table 2).

Due to the difference in lipid content between beef cuts, we chose to compare the two experimental cuts in terms of the proportion of fatty acids in relation to the lipid content rather than the proportion of fatty acid in 100 g of meat (Figure 2). The observed proportion of MUFA was similar in the beef cuts and chicken meat. The SFA and PUFA proportions were similar in both beef cuts, but higher ($P < 0.001$) and lower ($P < 0.0001$), than in dark chicken meat, respectively.

The fatty acid contents of the experimental meats were compared with USDA values. The SFA content of *biceps femoris* was 12% lower (4610 ± 198 vs. 5240 mg/100g; $P = 0.041$) than the USDA values; in *semimembranosus* the values were 21% higher (1555 ± 61 vs. 1290 mg/100g; $P = 0.013$); and in dark chicken meat the content was similar (1428 ± 124 vs. 1100). The MUFA content of beef cuts was 25% lower,

and of dark chicken meat 23% higher as compared to USDA values: *biceps femoris* (3649 ± 87 vs. 5660 mg/100g; $P=0.039$), *semimembranosus* (1315 ± 173 vs. 1550 mg/100g; $P=0.001$) and dark chicken meat, (1664 ± 77 vs. 1340 mg/100g; $P=0.022$). The PUFA content of beef cuts was observed to be 49% lower than USDA values, but the values obtained for dark chicken meat were similar to those of the USDA Handbook: *biceps femoris* (259 ± 24 vs. 520 mg/100g; $P=0.003$), *semimembranosus* (89 ± 24 vs. 180 mg/100g; $P=0.024$) and dark chicken meat (837 ± 94 vs. 1070 mg/100g).

DISCUSSION

The present experimental data indicate that beef cuts in Porto Alegre, southern Brazil, presented higher proportions of SFA and lower proportions of PUFA (principally of the n-3 family) than dark chicken meat.

The proportion of fatty acids described in this study is similar to that described for raw chicken leg in Australia (16) and Venezuela (17). However, the total lipid content of Australian chicken was higher (5.5 g/100g) than that reported by us; in addition, no long chain PUFA n-3 was observed in Australia (16).

Although the cholesterol content of chicken meat is higher than that of beef, the higher PUFA and lower SFA proportions in chicken may explain the 18% reduction in serum total cholesterol levels observed in a previous study when microalbuminuric type 2 diabetic patients replaced red meat with chicken (2). This supports the notion that the type of dietary fatty acid, rather than the level of dietary cholesterol, is the most potent regulator of serum cholesterol levels (3). A higher SFA intake increases low-density lipoprotein (LDL) cholesterol concentrations by decreasing LDL receptor-mediated catabolism (3).

When comparing our results with the information listed in the USDA Handbook we observed a few discrepancies, mainly for beef. Total lipid content, as well as PUFA and MUFA proportions were lower (26.5, 49 and 25%, respectively) in our beef samples than in the USDA Handbook. The cholesterol content of the *semimembranosus* cut was 14% lower than the reported USDA Handbook values. These discrepancies could be attributed to seasonal effects and/or feeding conditions.

Also, it is assumed that the meat cuts described in the USDA Handbook are retail meat cuts. Wahrmund-Wyle *et al.* (18) reported that the lipid content for separable lean from most cuts was lower than currently reported in the USDA Handbook. This was attributed to a health-conscious trend of the public and to a lower marbling content. Furthermore, the muscle groups associated with retail cuts vary depending on the region or country where they are produced (19). The *gluteobiceps muscle* contained the highest amounts of fatty acids including PUFA, and the *longissimus dorsi* the lowest amounts of PUFA in beef (20).

As regards chicken meat, the 23% higher MUFA content observed by us in relation to USDA values could be the result of marked advances in hen farming, especially in breeding and feeding practices. Genetic improvement, together with changes in feeding techniques, have reduced the time required to achieve slaughter weight from 120 days in the 1970s to 45 days at present (21).

Other authors have also observed discrepancies between food composition tables and the fatty acid contents of common foods: Taber *et al.* (22) reported that the levels of arachidonic acid were twice as high in raw and cooked beef, chicken breast and turkey breast as compared with the USDA Handbook SR-8. In contrast, arachidonic acid and n-3 family fatty acid contents in tuna were almost half the table values. This was attributed to differences in the analysis and conversion of w/w values

to mg per 100g and to cattle breed and age. The lipid content of separable lean in most cuts in a Texas study (18) was lower than that currently reported in the USDA Handbook. In Brazil, cattle are slaughtered with 5mm of level fat, similarly to Texas.

When we compared the methods used to measure cholesterol content, we observed that the enzymatic method overestimated this value in both experimental meats. Karkalas *et al.* (23) have observed a very good agreement between the enzymatic and gas-liquid chromatography (GLC) methods when analyzing the cholesterol content of poultry and cheese. Bohac *et al.* (24) have also reported a good agreement between the colorimetric and GLC methods in pork and beef. In the present study, the difference in the results obtained with the two methods could have been caused by interfering substances (25). In any case, we believe that the HPLC method is a better choice for measuring the cholesterol content of meats.

In conclusion, in this study chicken meat presented a more favorable fatty acid profile in terms of serum cholesterol than beef cuts. Furthermore, the discrepancies observed between our experimental data and USDA values suggest that it is important to construct regional tables of food composition, especially concerning lipid and fatty acid content.

ACKNOWLEDGMENTS: The authors are grateful to Prof. Dr. José Luiz Rodrigues (Veterinary School, UFRGS) to his suggestions about beef cuts.

REFERENCES

1. Ravid M, Brosh D, Ravid-Safran D, Levy Z, and Rachmani R (1998) Main Risk Factors for Nephropathy in Type 2 Diabetes Mellitus are Plasma Cholesterol Levels, Mean Blood Pressure and Hyperglycemia, *Archives of Internal Medicine*, 158: 998-1004.
2. Gross JL, Zelmanovitz T, Moulin CC, Mello VD, Perassolo M, Leitao C, Hoefel A, Paggi A, and Azevedo MJ (2002) Effect of a Chicken-Based Diet on Renal Function and Lipid Profile in Patients with Type 2 Diabetes, *Diabetes Care*, 25: 645-651.
3. Schaefer E.J. (2002) Lipoproteins, Nutrition and Heart Disease, *American Journal of Clinical Nutrition*, 75: 191-212.
4. Bragagnolo N. (1997) Fatores que Influenciam o Nível de Colesterol, Lipídios Totais e Composição de Ácidos Graxos em Camarão e Carne. Doctoral thesis, Unicamp, São Paulo, Brazil, pp. 51-70.
5. Posati L.P. (1979) *The Composition of Foods: Poultry Products*, Agricultural Handbook Number 8, Consumer Food Econ. Inst., Washington, DC. Revised August.
6. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (1990) *Composition of Foods: Beef Products; Raw, Processed, Prepared*, Agricultural Handbook No. 8-13, p.6, U.S. Government Printing Office, Washington DC.
7. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2001) *USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 14, Nutrient Data Laboratory*, Internet website, available at <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>. Accessed December 2002.

8. Moulin CC, Tiskievicz F, Zelmanovitz T, Oliveira J, Azevedo MJ, and Gross JL (1998) Use of Weighed Diet Records in the Evaluation of Diets with Different Protein Contents in Patients with Type 2 Diabetes, *American Journal of Clinical Nutrition*, 67: 853-857.
9. Cuniff P (1997) in *Official Methods of Official Analysis of the Association of Official Chemists*, 16th ed., vol. II, 39, P. 1, 5-6, AOAC International, Maryland, USA.
10. Stewart G, Gosselin C, and Pandian S (1992) Selected Ion Monitoring of Tert-butyltrimethylsilyl Cholesterol Ethers for Determination of Total Cholesterol Content in Foods, *Food Chemistry*, 44: 377-380.
11. Bragagnolo N, and Rodriguez-Amaya D.B. (2001) Total Lipid, Cholesterol, and Fatty Acids of Farmed Freshwater Prawn (*macrobrachium rosenbergii*) and Wild Marine Shrimp (*Penaeus brasiliensis*, *Penaeus schimitti*, *Xiphopenaeus kroyeri*), *Journal of Composition Analytical*, 14: 359-369.
12. Folch J, Lees M, and Sloane-Stanley G.H., (1957) A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues, *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497-509.
13. Joseph J, and Ackman RG (1992) Capillary Column Gas Chromatographic Method for Analysis of Encapsulated Fish Oils and Fish Oil Ethyl Esters: Collaborative Study, *Journal of AOAC International*, 75: 488-586.
14. Holland B. (1994) in *McCance and Widdowson's The Composition of Foods* (Welch, A.A., Unwin, I.D., Buss, D.H., Paul, A.A., and Southgate, D.A.T., eds.), pp.8-9, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, and the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, UK.

15. Badiani A, Stipa S, Bitossi. F PP, Gatta VG and Chizzolini R (2002) Lipid Composition, Retention and Oxidation in Fresh and Completely Trimmed Beef Muscles as Affected by Common Culinary Practices, *Meat Science*, 60: 169-186.
16. Hutchison GI, Thomas DE and Truswell AS (1987) Nutrient Composition of Australian Chicken, *Food Technology in Australia*, 39: 196-198.
17. Vizcarrondo CA, Padilha FC and Martín EG (1998) Fatty Acid Composition of Beef, Pork and Poultry Fresh Cuts and Some of their Processed Products, *Archives of Latioamerican Nutrition*, 48: 354-358.
18. Wahrmund-Wyle JL, Harris KB and Savell JW (2000) Beef Retail Cut Composition: 2. Proximate Analysis, *Journal of Food Composition Analytical*, 13: 243-251.
19. Savell JW, Harris JJ, Cross HR, Hale DS and Beasley LC (1991) National Beef Market basket survey, *Journal of Animal Science*, 69: 2883-2893.
20. Enser M, Hallett K, Hewett B, Fursey GAJ, Wood JD and Harrington G (1998) Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle relation to production system and implications for human nutrition, *Meat Science*, 49: 329-341.
21. Albino LFT and Neme R (1998) Inter-relação Ambiente versus Nutrição em Frangos de Corte, in *Anais do Simpósio de Nutrição Animal em Tecnologia de Produção. Rações*, pp. 65-75, Biagi, J.D., Cyrino, J.E.P., Menten, J.F.M. and Miyada, V.S., Campinas.
22. Taber L, Chiu C and Whelan J (1998) Assessment of the Arachidonic Acid Content in Foods Commonly Consumed in American Diet., *Lipids*, 33: 1151-1157.
23. Karkalas J, Donald AE and Clegg KM (1982) Cholesterol Content of Poultry Meat and Cheese Determined by Enzymatic and Gas-liquid Chromatography Methods, *Journal of Food Technology*, 17: 281-283.

24. Bohac CE, Rhee KS, Cross HR and Ono K (1988) Assessment of methodologies for colorimetric cholesterol assay of meats, *Journal of Food Science*, 53: 1642-1644.
25. Rifai N (1997) Measurement of Cholesterol Concentration, in *Handbook of Lipoprotein Testing* (Warnick G.R., and Dominiczak M.H., eds.), pp.106-108, AACC Press, Washington DC.

Table 1: Chemical Composition (per 100g) of Raw Chicken and Beef

	Beef cuts		Dark chicken meat ^a	Anova P^b
	<i>Semimembranosus</i>	<i>Biceps femoris</i>		
Moisture (g) ^c	74.48 ± 1.08	72.48 ± 1.57	77.49 ± 1.04	<0.001 ^d
Protein (g) ^c	21.17 ± 0.16	20.97 ± 0.04	18.83 ± 0.09	<0.001 ^e
Fat (g) ^c	3.08 ± 0.07	8.75 ± 1.12	4.08 ± 0.60	<0.001 ^f
Cholesterol (mg) ^g	51.97 ± 1.40	63.02 ± 3.62	80.30 ± 2.83	<0.001 ^d

^aData concerning drumstick and thigh were grouped (40:60 proportion)

^bANOVA was used for normal-distribution values and logarithm-transformed data for non-normal-distribution values.

^cData presented as mean ± SD of three brands (A-C), in duplicate, n = 3.

^dAll meats were statistically different (Student-Newman-Keuls) from each other (P<0.001).

^eDark chicken meat was statistically different (Student-Newman-Keuls) as compared to beef cuts (P<0.001).

^f*Biceps femoris* was statistically different (Student-Newman-Keuls) as compared to *Semimembranosus* and dark chicken meat (P<0.001).

^gData presented as mean ± SD of three brands (A-C), in triplicate, n = 3.

Table 2: Fatty Acid Composition (mg/100g) of Raw Chicken and Beef ^a

Composition	Beef cuts		Dark	ANOVA
	<i>Semimembranosus</i>	<i>Biceps femoris</i>	chicken meat ^b	P ^c
Myristic acid (14:0)	99 ± 9	356 ± 11	29 ± 3	<0.001 ^d
Palmitic acid (16:0)	958 ± 61	2804 ± 198	1097 ± 124	<0.001 ^e
Stearic acid (18:0)	498 ± 46	1450 ± 119	302 ± 22	<0.001 ^d
Total saturated fatty acids	1555 ± 116	4610 ± 328	1428 ± 124	<0.001 ^e
Palmitoleic acid (16:1n-7)	207 ± 173	639 ± 87	298 ± 56	<0.010 ^e
Oleic acid (18:1n-9)	1108 ± 118	3010 ± 80	1366 ± 77	<0.001 ^d
n-9 MUFA	1108 ± 118	3010 ± 80	1366 ± 77	<0.001 ^d
Total MUFA	1315 ± 173	3649 ± 87	1664 ± 77	<0.001 ^d
Linoleic acid (18:2n-6)	35 ± 24	183 ± 24	728 ± 94	<0.001 ^f
Gamma-linolenic (18:3n-6)	1	39 ± 10	1	<0.001 ^e
α-Linolenic acid (18:3n-3)	32 ± 10	22 ± 5	25 ± 4	0.263
Arachidonic acid (20:4n-6)	21 ± 5	15 ± 1	46 ± 3	0.110
EPA (22:5n-3)	0.1	0.1	23 ± 3	0.001 ^f
DHA (22:6n-3)	0.1	0.1	14 ± 1	0.014 ^f
n-3 PUFA	32 ± 10	22 ± 5	62 ± 4	0.001 ^f
n-6 PUFA	57 ± 24	237 ± 24	775 ± 94	<0.001 ^f
Total PUFA	89 ± 24	259 ± 24	837 ± 94	<0.001 ^f

^aData presented as mean ± SD.

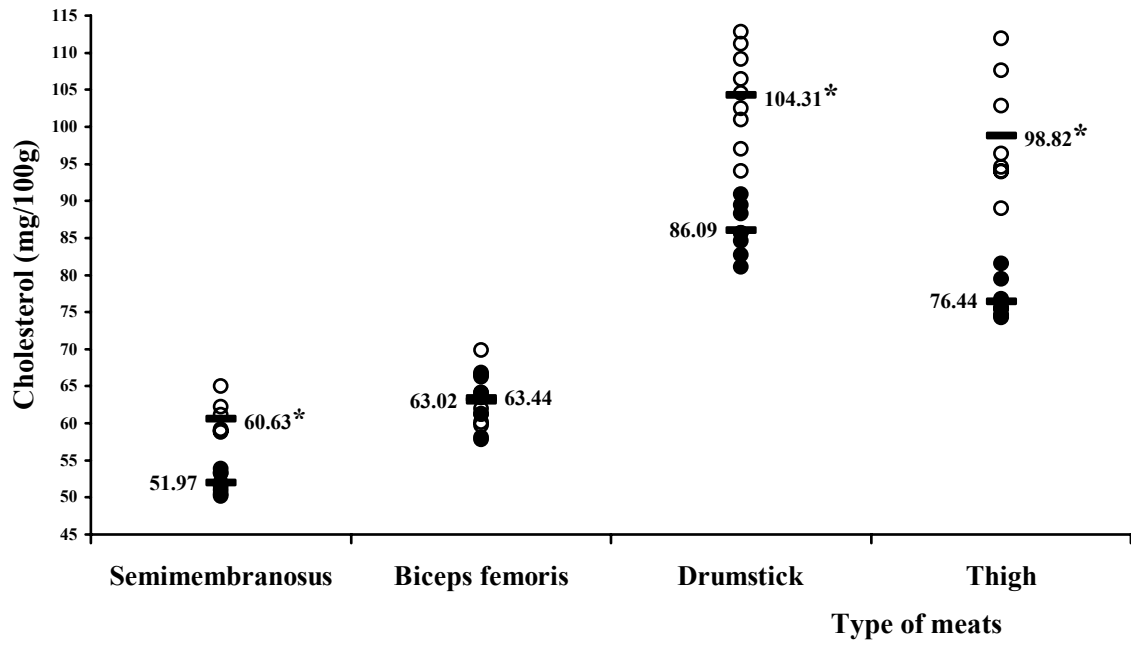
^bData obtained from drumstick and thigh were grouped (40:60 proportion).

^cANOVA was used for normal-distribution values and logarithm-transformed data for non-normal-distribution values.

^dAll meats were statistically different (Student-Newman-Keuls) from each other (P<0.001).

^e*Biceps femoris* was statistically different (Student-Newman-Keuls) as compared to *Semimembranosus* and dark chicken meat (P<0.001).

^fDark chicken meat was statistically different (Student-Newman-Keuls) as compared to beef cuts (P<0.001).



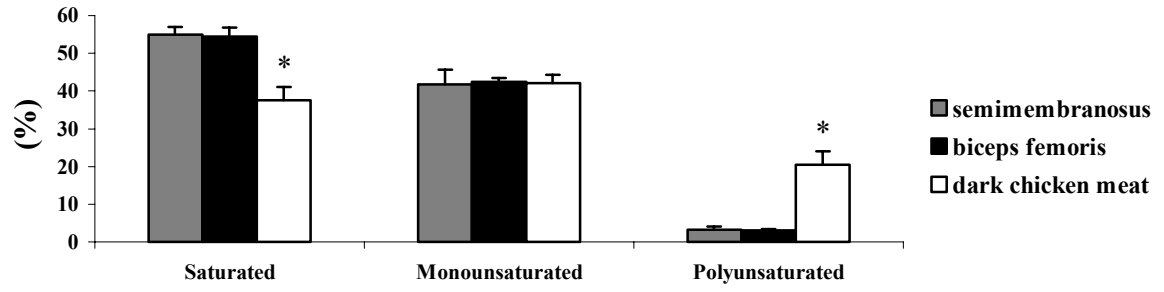


Figure legends:

Figure 1: Comparison between two cholesterol analysis methods (mg per 100g) in raw experimental foods. Results obtained with enzymatic method appear as open dot (o); closed dot (●) represents results obtained with HPLC. Mean values presented as and significance calculated by logarithm-transformed data. Independent t test was used. * = $P < 0.05$.

Figure 2: Proportion of fatty acid (%) in different experimental meats. Values expressed as mean \pm SD and significance calculated by logarithm-transformed data. ANOVA was used. * = $P < 0.001$ (Student-Newman-Keuls).

ANEXOS

Anexo 1

REGISTRO ALIMENTAR (RA):

NOME

DATA:

() SEGUNDA-FEIRA () TERÇA-FEIRA () QUARTA-FEIRA

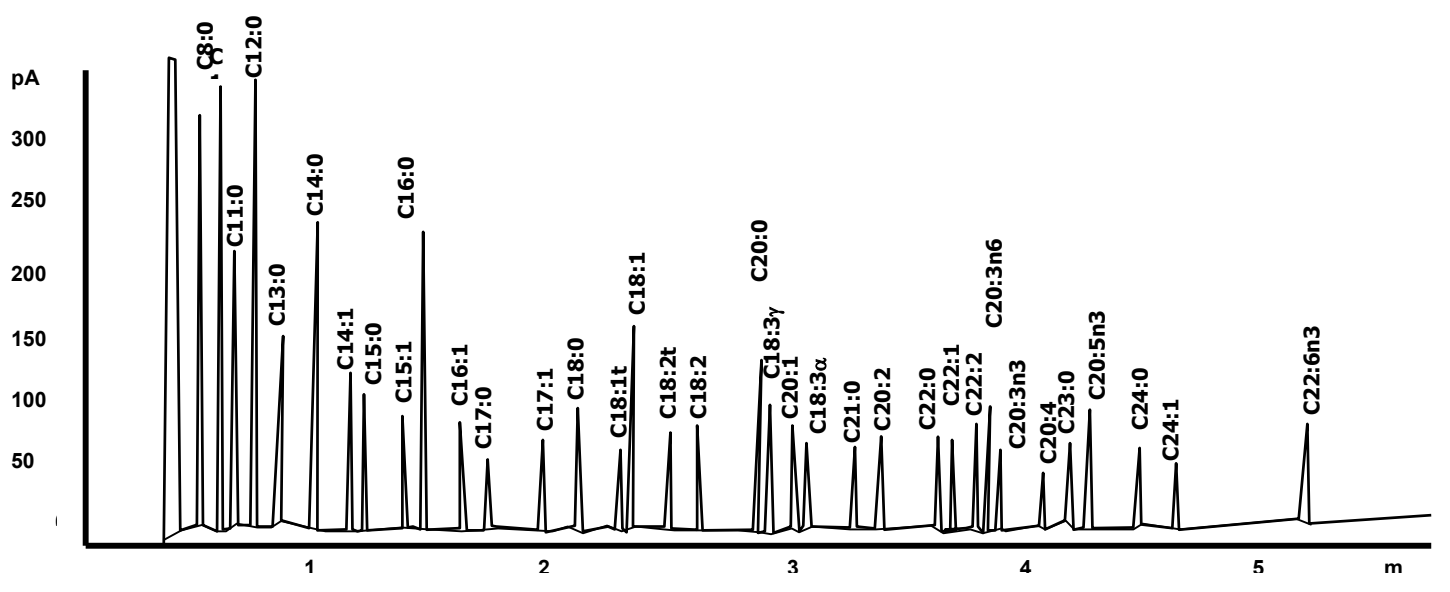
() QUINTA-FEIRA () SEXTA-FEIRA () SÁBADO () DOMINGO

	ALIMENTO (TIPO)	QTDE	OBS
CAFÉ DA MANHÃ			
LANCHE DA MANHÃ			
ALMOÇO			
LANCHE DA TARDE			
JANTAR			
LANCHE DA NOITE			

ATENÇÃO!

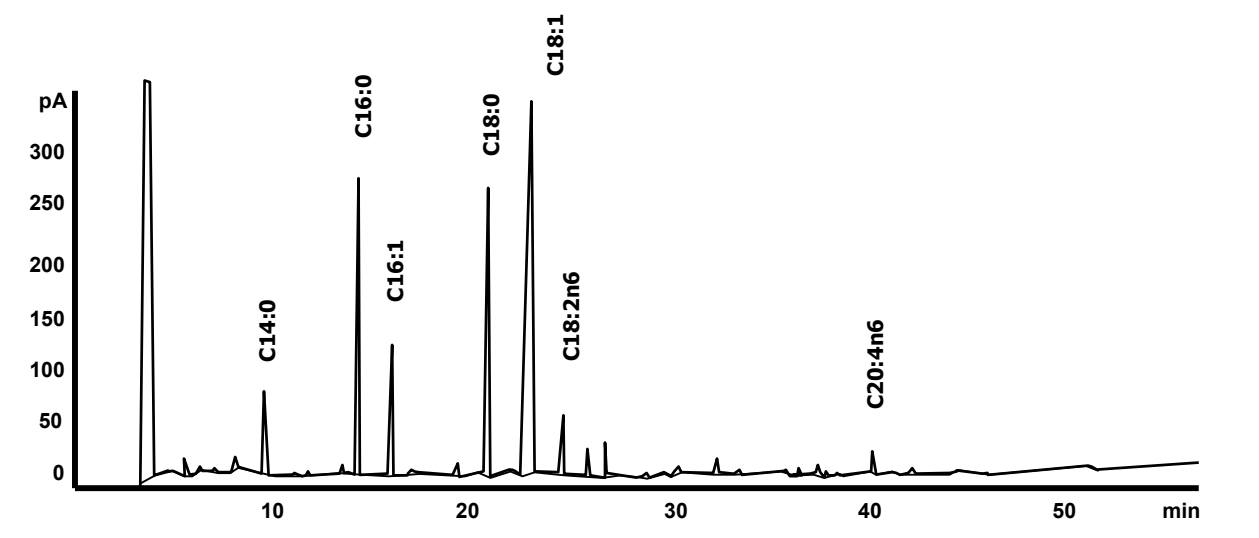
- Anotar a quantidade de adoçante usado para líquidos, frutas ou outros.
- Não esquecer de anotar a quantidade e o tipo de líquidos ingeridos durante o dia e às refeições (água, refrigerante, suco, refresco, cafezinho, chá).
- Utilizar copo graduado e balança em todas as medidas.
 - Anotar as medidas das sobras e a quantidade de gordura usada para cozinhar os alimentos.

Anexo 2

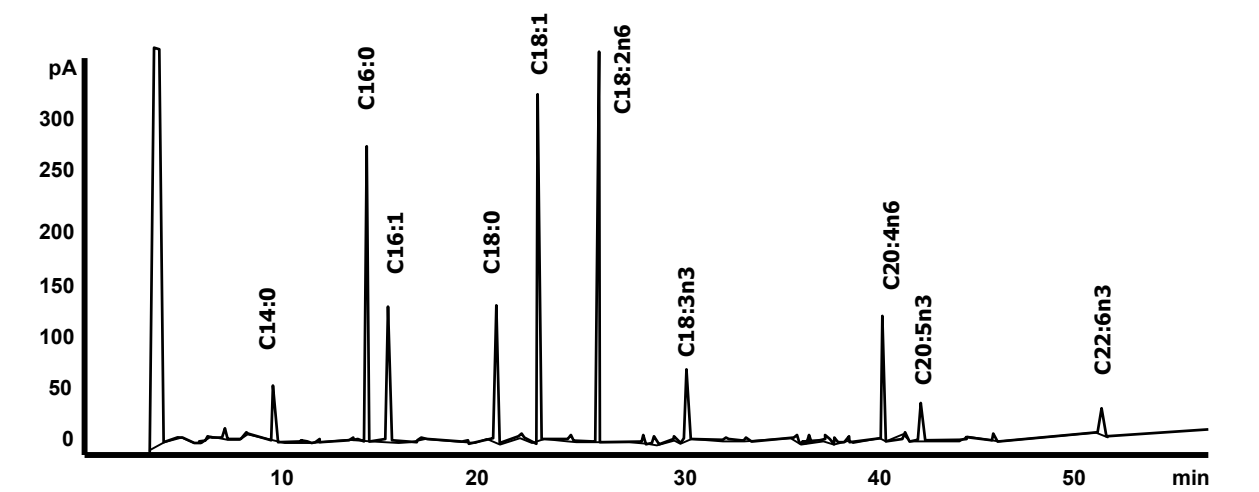


Cromatograma característico do padrão de ésteres metílicos obtidos por cromatografia gasosa.

Anexo 3



Cromatograma característico de ésteres metílicos de uma amostra de carne bovina obtido por CG.



Cromatograma característico de ésteres metílicos de uma amostra de carne de frango obtido por CG.