

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos**



**DISSERTAÇÃO**

**Efeito da linhaça (*Linum usitatissimum*) em forma triturada,  
farelo desengordurado e óleo sobre o perfil lipídico e  
fermentação colônica em ratos *Wistar***

**Carolina Galarza Vargas**

Pelotas, 2012

CAROLINA GALARZA VARGAS

**EFEITO DA LINHAÇA (*Linum usitatissimum*) EM FORMA  
TRITURADA, FARELO DESENGORDURADO E ÓLEO SOBRE O  
PERFIL LIPÍDICO E FERMENTAÇÃO COLÔNICA EM RATOS  
*WISTAR***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elizabete Helbig  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Giovana Duzzo Gamaro

Pelotas, 2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

V297e Vargas, Carolina Galarza

Efeito da linhaça (*linum usitatissimum*) em forma triturada, farelo desengordurado e óleo sobre o perfil lipídico e fermentação colônica em ratos Wistar / Carolina Galarza Vargas. Pelotas, 2012.  
95 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2012. Orientação: Elizabete Helbig; co-orientação: Giovana Duzzo Gamaro.

1. Nutrição. 2. Fibra dietética. 3. Colesterol. 4. Perfil lipídico. 5. Ácidos graxos de cadeia curta. I. Título.

CDD: 641.1

Banca examinadora:

Profª Drª. Leonor Almeida de Souza Soares

Profª Drª. Adriana Lourenço da Silva

Profª Drª. Elizandra Braganhol

## **Agradecimentos**

Primeiramente agradeço a Deus por ter conduzido minha vida e ter colocado nela a oportunidade desta grande realização.

A “profe” Beti que foi uma grande orientadora, pelos ensinamentos, dedicação, apoio, paciência, parceria, profissionalismo, sensatez, confiança e incentivo em todos os momentos.

À professora Gio pela co-orientação, disposição e eterna boa vontade em me auxiliar sempre que necessário.

Às professoras Leonor, Adri e Eliz pelo apoio como membros da banca, pela valorosa contribuição para o enriquecimento do trabalho.

Aos alunos, que participaram dessa pesquisa. Sem eles nada seria feito. A todos meu profundo agradecimento, por terem acreditado no trabalho e dedicado parte do seu tempo para colaborar com o bom andamento da pesquisa.

Ao professor Rui por ter aberto um espaço em seu laboratório, me auxiliando em algumas análises.

Ao professor Luciano Amarante e seu orientado Júnior por me cederem seu laboratório e auxiliarem com extrema boa vontade.

À minha família, minha irmã Vê e meus avós por torcerem e acreditarem em mim.

Um agradecimento especial àqueles que são a base da minha vida, meus pais, pelo apoio, confiança e amor que depositam em mim. Especialmente à minha mãe que é minha fonte de inspiração, sabedoria, meu maior orgulho, minha amiga de todas as horas, que sonha e batalha ao meu lado na concretização desses sonhos. Mãe sem palavras... E ao meu pai pelo bom coração que tem, pela dignidade, bondade e honestidade. Um exemplo de ser humano! Meu mais sincero muito obrigada! Sem vocês não sou nada! Amos vocês infinitamente!

Ao Filipe que muito mais que um namorado foi e é um grande parceiro, pelo apoio nos momentos difíceis, pela ajuda em todas as horas. Obrigada por compreender minha ausência, minhas mudanças de humor e minhas crises de choro! Tens imensa importância na minha vida, te amo amor!

À duas amigas mais do que especiais que tornam os meus dias mais alegres, que fizeram do meu mestrado uma fase de extrema felicidade em minha vida, Japa

e Dé obrigada pela sincera amizade, acho que devo dizer irmandade, que nasceu e cresce firme e forte entre nós! Amo vocês manas!

À querida Pati Duval, pessoa que admiro muito pela coragem, otimismo e coleguismo, obrigada por todo o carinho, parceria e boa vontade, inclusive pra atualizar meu lattes!

À Eliza pela boa vontade em ajudar e por tantos momentos agradáveis que tivemos juntas!

Às instituições CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de mestrado e FAPERS– Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul ARD processo 10/0489-0 pelo financiamento do projeto.

Às empresas Pazze Ltda de Panambi – RS, pela doação do grão, farelo desengordurado e do óleo, Prozyn BioSolutions e Granotec pela doação das enzimas amiloglicosidase e protease.

Enfim... a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigada!

## Sumário

Projeto de pesquisa.....	7
Alterações no projeto de pesquisa.....	41
Artigo 1: Efeito da linhaça ( <i>Linum usitatissimum</i> ), farelo desengordurado e óleo de linhaça no metabolismo lipídico e glicídico em ratos <i>Wistar</i> .....	42
Artigo 2: Efeitos da ingestão de óleo, farelo desengordurado e linhaça ( <i>Linum usitatissimum</i> ) em parâmetros fermentativos de ratos <i>Wistar</i> .....	73

## Projeto de Pesquisa



# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

## **Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos**



**Projeto de pesquisa**

**Efeito da linhaça (*Linum usitatissimum*), farelo  
desengordurado e óleo de linhaça na fermentação colônica  
em ratos *Wistar***

**Carolina Galarza Vargas**

Pelotas, 2010

## **Lista de tabelas**

Tabela 1	Formulação das dietas experimentais.....	27
Tabela 2	Delineamento experimental para avaliar a influência da linhagem em dietas hiperlipídicas nos parâmetros fermentativos e no metabolismo lipídico de ratos.....	28

## **Lista de abreviaturas e siglas**

AGCC	- Ácidos Graxos de Cadeia Curta
ALA	- Ácido $\alpha$ -linolênico
AL	- Ácido linoléico
AIN	- American Intitute of Nutrition
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AACC	- American Association of Cereal Chemists
AOAC	- Association of Official Agricultural Chemist
CG	- Cromatografia Gasosa
COBEA	- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CEEA	- Comitê de Ética e Experimentação Animal
FA	- hidroximetilglutaril coenzima A redutase
HDL	- Lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA redutase	- Hidroximetilglutaril coenzima A redutase
IOM	- Institute of Medicine
LDL	- Lipoproteína de baixa densidade
PUFA	- Polyunsaturated fatty acids
UFPeI	- Universidade Federal de Pelotas
VLDL	- Lipoproteína de muito baixa densidade

## **Resumo**

A crescente morbimortalidade relacionada às doenças crônico-degenerativas não transmissíveis como câncer, diabetes, hipertensão, doenças coronarianas e obesidade representa uma forte ameaça à saúde humana. Essas doenças têm sido apontadas como as maiores causas de morte no mundo, sendo responsáveis por um número estimado de 35 milhões de mortes a cada ano, em torno de 60% de todas as mortes a nível mundial, dados que apontam para a necessidade da adoção de medidas que visam a prevenção e a cura das mesmas. Tendo em vista as propriedades funcionais da linhaça e as diferentes formas de consumo da mesma, este estudo terá por objetivo verificar o efeito da suplementação de dietas hipercolesterolêmicas com óleo, farelo desengordurado e semente de linhaça triturada, em duas concentrações, sobre os parâmetros fermentativos e metabolismo lipídico de ratos.

## 1 Introdução

A crescente morbimortalidade relacionada às doenças crônico-degenerativas não transmissíveis como câncer, diabetes, hipertensão, doenças coronarianas e obesidade representa uma forte ameaça à saúde humana. Essas doenças têm sido apontadas como as maiores causas de morte no mundo, sendo responsáveis por um número estimado de 35 milhões de mortes a cada ano, em torno de 60% de todas as mortes a nível mundial, dados que apontam para a necessidade da adoção de medidas que visam a prevenção e a cura das mesmas (WHO, 2008).

A população mundial vem demonstrando crescente preocupação com a alimentação e seus constituintes (MARQUES, 2008), uma vez que o tipo e a qualidade da alimentação consumida têm sido mencionados no conjunto dos fatores de relevância para a prevenção de algumas doenças crônico-degenerativas não transmissíveis (LIMA et al., 2000; ALMARIO et al., 2001; CINTRA et al., 2006).

Dessa forma, não raro, pesquisas apontam que maior ou menor ingestão de certos alimentos pode prevenir ou tratar doenças. Esta realidade tem incentivado a indústria alimentícia a investir em produtos saudáveis e nos alimentos com propriedades funcionais. Entre os alimentos com estas características, de acordo com Marques (2008), encontra-se a linhaça (*Linum usitatissimum*).

Esse grão oleaginoso, de cor marrom ou amarelo dourado é rico em ácidos graxos poliinsaturados  $\alpha$ -linolênico (ALA) e, em menor quantidade, linoléico (AL), além de conter teores significativos de proteína vegetal, lignanas, fibra alimentar solúvel e insolúvel, goma ou mucilagem, ácidos fenólicos, flavonóides, ácido fítico, vitaminas e minerais. Essas substâncias conferem propriedades funcionais à linhaça, em função dos benefícios que proporcionam à saúde (CHEN et al.; 2007, COLLINS et al.; 2003).

Os teores de fibra alimentar (FA) presentes na linhaça são bastante significativos, pois ela contém 28% de fibra alimentar total, das quais 75% são insolúveis e 25% solúveis, sendo as principais frações de fibra compostas por celulose, mucilagens e lignina (MORRIS, 2001).

As fibras são componentes da dieta que não sofrem digestão no trato superior do sistema digestório, ao atingirem o cólon, podem ser utilizadas como substrato para a fermentação pela microflora bacteriana. A fermentação colônica caracteriza-

se pela utilização anaeróbia destes substratos, com a conseqüente formação de diversos produtos, que promoverão diferentes efeitos fisiológicos locais e sistêmicos (MATIAS, 2007). Destacam-se como os principais alguns gases (dióxido de carbono, hidrogênio e metano), água e ácidos graxos de cadeia curta, sendo os mais importantes o ácido acético, o propiônico e o butírico (GOÑI, 2001).

Os ácidos graxos de cadeia curta estão relacionados com a manutenção do pH intestinal, com o trofismo da mucosa colônica e a proteção da microbiota normal evitando, dessa forma, o crescimento de bactérias patogênicas (GRECA, 2003).

Evidências da literatura mostram que a mucosa do intestino delgado pode absorver ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), dentre esses, o butirato, especialmente, é o melhor combustível para colonócitos contribuindo com 70% de energia para as células da mucosa do cólon, o que contribui para uma mucosa mais resistente a patógenos e carcinógenos (COOK, 1998).

O ácido acético, produzido na fermentação colônica, após ser absorvido, é transportado pela veia porta até o fígado, sendo utilizado periféricamente como fonte de energia e como estrutura para síntese de ácidos graxos de cadeia média e longa. Na ausência de carboidrato pode ser utilizado como substrato para a gliconeogênese (GOÑI, 2001).

Já o ácido propiônico é um importante precursor de rotas biossintéticas como a gliconeogênese. Além disso, o ácido propiônico atua inibindo a enzima hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase) importante enzima relacionada à síntese de colesterol nos hepatócitos, (TODESCO e col., 1991; FAO/WHO, 1998).

Considerando que as doenças cardiovasculares têm se destacado por serem as principais causas de morte e incapacidade no mundo ocidental (RIEDIGER et al., 2009), e entre um dos principais fatores de risco encontram-se as dislipidemias (LIMA, 2000), torna-se de suma importância avaliar a função hipocolesterolêmica da linhaça. Estudos têm mostrado que a fibra alimentar solúvel contida neste grão pode contribuir para a redução dos níveis de colesterol plasmático através da inibição da absorção intestinal de colesterol e ácidos biliares (MATIAS, 2007). O efeito hipocolesterolêmico da linhaça também é atribuído à presença de ácido  $\alpha$ -linolênico e lignanas (BHATHENA et al., 2003).

As pesquisas têm mostrado resultados mais evidentes na redução do risco cardiovascular para o consumo das sementes oleaginosas ao invés do óleo produzido a partir delas, isso se deve pelo fato de que além da fonte de ácidos

graxos benéficos (poli e monoinsaturados), elas são fontes de outros nutrientes que podem auxiliar na redução do risco para doença cardiovascular, como fitosteróis, fibras solúveis, minerais e proteína vegetal (SALES, 2009).

Tendo em vista as propriedades funcionais da linhaça e as diferentes formas de consumo da mesma, este projeto tem por objetivo verificar o efeito da suplementação de dietas hipercolesterolêmicas com óleo, farelo desengordurado e semente de linhaça triturada, em duas concentrações, sobre os parâmetros fermentativos e metabolismo lipídico de ratos.

## **2 Hipótese**

A linhaça possui atividade hipocolesterolêmica, por meio de mecanismos que reduzem o colesterol plasmático e hepático e que aumentam a excreção de gordura pelas fezes. Devido ao alto teor de fibras, esse grão produz aumento do bolo fecal, formação de ácidos graxos de cadeia curta pela fermentação das fibras e conseqüente diminuição do pH do cólon.



### **3 Objetivos**

#### **3.1 Objetivo geral**

Este estudo terá como objetivo investigar a ação fisiológica, causada pela suplementação de dietas hiperlipídicas com óleo, farelo desengordurado e semente de linhaça triturada, em duas concentrações, nos parâmetros fermentativos e no metabolismo lipídico, em ratos adultos.

#### **3. 2 Objetivos específicos**

Investigar o metabolismo glicídico e lipídico por meio de:

- Análise de glicemia de jejum;
- Quantificação de gordura peritoneal;
- Quantificação de colesterol total, triacilgliceróis, frações HDL-colesterol, LDL-colesterol e VLDL-colesterol no plasma;
- Determinação de lipídeos e colesterol totais hepáticos;
- Quantificação de ácidos biliares, colesterol total e lipídeos totais excretados nas fezes.

Investigar a ação fermentativa do óleo, farelo e linhaça triturada por meio de:

- Determinação do peso do conteúdo cecal;
- Análise de pH do conteúdo cecal;
- Quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta (acetato, butirato e propionato) no conteúdo cecal;
- Verificação do peso das fezes úmidas e dessecadas;
- Determinação das frações de fibras solúvel e insolúvel nas fezes.

## 4. Revisão da literatura

### 4.1 Linhaça (*Linum usitatissimum*)

A linhaça (*Linum usitatissimum*) é uma semente oleaginosa, proveniente de uma planta, pertencente à família das Lináceas, que apresenta um talo principal, da onde saem vários ramos nos quais nascem as folhas, as flores e as cápsulas. Tem aproveitamento pela indústria em quase sua totalidade. Seu caule é utilizado pela indústria para a produção do linho, tecido utilizado para a confecção de roupas. Da sua semente é extraído o óleo, utilizado para a fabricação de tintas, resinas e também na indústria alimentícia (TRUCOM, 2006).

No Brasil o cultivo da linhaça é mantido por descendentes de imigrantes poloneses e alemães, e se restringe basicamente ao Rio Grande do Sul, mais especificamente ao noroeste gaúcho, uma vez que é preciso clima frio, em torno de 0° até 2°C, para que ocorra a floração. Seu plantio ocorre no inverno e a colheita nos meses do verão. É de fácil cultivo, sendo muitas vezes realizado no processo de rotação das culturas, com a finalidade de recuperar terras e evitar o desgaste e a erosão do solo, aproveitando a adubação residual do milho e da soja (TRUCOM, 2006).

A linhaça possui 40% de peso em óleo, dos quais 70% são poliinsaturados (PUFAs). O ácido  $\alpha$ -linolênico ( $\omega$ -3) constitui mais de 50% desses lipídios. Assim, a linhaça é considerada o alimento de origem vegetal mais rico em  $\omega$ -3, o que vem despertando o interesse em estudos sobre seus possíveis efeitos funcionais (DAUN et al, 2003; STAVRO et al, 2003). Além disso, é fonte de fibras alimentares, possui cerca de 30% de fibras, das quais 75% são insolúveis que atuam com efeito laxativo e 25%, solúveis cuja principal função é auxiliar na redução do colesterol plasmático (AHMED, 1999; PAYNE, 2000).

Contém cerca de 20% de proteínas, apresentando a lisina, a metionina e a cisteína como aminoácidos limitantes, 4% de cinzas e 6% de umidade. É

considerada um alimento de alta densidade energética (DAUN, et al., 2003; STAVRO, et al., 2003) fonte de vitamina E, vitaminas do complexo B e vitamina C, e possui como principais minerais o potássio e o fósforo (DAUN, et al., 2003).

Devido às características da sua composição, esse grão tem sido amplamente investigado e classificado como alimento com propriedade funcional (PAYNE, 2000; OOMAH, 2001; RAFTER, 2002).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamentou os alimentos funcionais por meio das Resoluções 18/99 e 19/99. Entre os pontos abordados, destaca-se que nenhum alimento comercializado possa fazer referência à cura ou à prevenção de doenças, sendo aceitos somente os termos “redução de risco” e “benefícios à saúde” (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b).

Em vista disso, e de que esse grão pode ser consumido de diversas formas (*in natura*, inteiro ou moído), acrescentado diretamente sobre alimentos ou mesmo ser utilizado como ingrediente na preparação de diferentes produtos alimentícios, muitos estudos tem sido realizados com a linhaça ou com os produtos derivados da mesma como por exemplo, óleo, farelo e goma afim de investigar suas propriedades (VILLARROEL, et al., 2006).

A correlação entre ingestão da linhaça e redução do risco cardiovascular, pela redução do colesterol sanguíneo e da fração LDL (lipoproteína de baixa densidade) tem sido investigada. Os resultados evidenciaram que a linhaça possui componentes que auxiliam na redução do colesterol, como as fibras solúveis, ácidos graxos  $\omega$ -3 e precursores das lignanas, as quais possuem grande potencial antioxidante (STAVRO, et al., 2003).

Vanharanta (1999) demonstrou associação inversa entre a concentração sérica de lignanas e o risco agudo de doença cardiovascular. Esse benefício foi atribuído não somente à presença de lignanas, mas em grande parte ao tipo e quantidade de fibras presentes na linhaça.

Bhathena (2003), comparando o efeito protetor da soja e da linhaça em modelo animal com hipertrigliceridemia e esteatose hepática, verificou redução tanto dos triacilgliceróis plasmáticos, quanto da fração LDL colesterol, com manutenção do HDL colesterol e menor deposição de lipídios no fígado do grupo com ingestão de linhaça.

Cintra et al. (2006) testaram o efeito do consumo de dieta hiperlipídica à base de óleo de soja, truta, semente de linhaça, amendoim e pele de frango, em ratos *Wistar*,

durante 28 dias. No grupo que ingeriu a linhaça, foi verificada a maior redução dos níveis de colesterol total e de triacilgliceróis, maior excreção fecal de lipídios e menor deposição de colesterol no fígado, resultado este comparável ao observado por Bhathena (2003).

Dessa forma, é comprovado que a ingestão da linhaça reduz os riscos de doença cardiovascular. Tais efeitos podem ser atribuídos a um conjunto de fatores, como fibras, lignanas e ácidos graxos  $\omega$ -3, presentes na sua composição.

#### **4.2 Propriedades das fibras de linhaça (*Linum usitatissimum*)**

Várias definições vêm sendo, ao longo dos anos, propostas para definir fibras, no entanto ainda não existe um consenso entre as organizações internacionais a respeito do tema (DE VRIES e RADER, 2005).

No ano de 2000 a definição recomendada pela AACC (American Association of Cereal Chemists) estabelecida em comitê é a seguinte: “Fibra alimentar (FA) é a parte comestível de plantas ou carboidratos análogos que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado com fermentação completa ou parcial no intestino grosso. Fibra alimentar inclui polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina, e substâncias vegetais associadas. Fibra alimentar promove efeitos fisiológicos benéficos incluindo laxativo e/ou atenuação de colesterol sanguíneo e/ou atenuação de glicemia” (AACC, 2000).

Em paralelo, também no ano de 2000, a Divisão de Alimentos e Nutrição do Instituto de Medicina (Institute of Medicine - IOM) da Academia Nacional norte americana formou um painel de discussão que propôs 2 definições para englobar os carboidratos não digeríveis. Em 2002 surgiu o termo “fibra funcional”, sendo assim, “fibra alimentar consiste de carboidratos não digeríveis e lignina que são intrínsecos e intactos em plantas; fibra funcional consiste de carboidratos não digeríveis isolados adicionados aos alimentos que exercem efeitos fisiológicos benéficos em humanos. Fibra total caracteriza-se pela fusão de fibra alimentar e fibra funcional” (DE VRIES e RADER, 2005; JONES, et al., 2006).

A fibra alimentar do grão de linhaça apresenta boa proporção entre fibra solúvel e insolúvel. A FA possui um papel fundamental na regulação da dinâmica do trânsito gastrointestinal e na formação e eliminação das fezes (RUIZ-ROSO, 2001), esse efeito é atribuído à fibra insolúvel, que tem capacidade de reter água o que contribui

para o aumento do volume fecal conseqüentemente diminuição do tempo de trânsito das fezes no trato intestinal. O efeito laxativo é atribuído a distensão das paredes do cólon, pelo aumento da massa fecal, que estimula os mecanorreceptores colônicos e os movimentos peristálticos do intestino (CAMPOS, 1999). Por outro lado, sabe-se que as fibras solúveis são em parte fermentadas pelas bactérias do cólon e que desempenham, no organismo, atividades hipoglicemiante, hipocolesterolêmica e hipotrigliceridêmica, além de atuarem na prevenção da obesidade, aumentando o poder de saciedade da refeição e ativando o metabolismo (RUIZ-ROSO, 2000; FILISETTI, 2007).

A goma ou mucilagem, por sua vez, é um polissacarídeo heterogêneo, formado por xilose, arabinose, glicose, galactose, ácido galacturônico e ramnose que compõe aproximadamente 8% do peso do grão e geralmente é extraída da torta de linhaça (CHEN, et al., 2006).

#### **4.3 Efeitos de ácidos graxos de cadeia curta provenientes de linhaça (*Linum usitatissimum*)**

Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) são AG orgânicos com 1 a 6 carbonos que constituem os principais ânions do conteúdo colônico. Dos AGCC formados no cólon, 95% compreendem o acetato (2C), propionato (3C) e o butirato (4C), que são produzidos numa razão molar relativamente constante de 60:25:15, respectivamente (ROWE, 1992).

Os AGCC são produzidos a partir da degradação bacteriana de carboidratos e proteínas da dieta, sendo que os principais substratos fermentáveis do cólon são o amido e as fibras dietéticas (GÖNI, 2001).

Somente no final do século XX foram realizados estudos clínicos sobre a absorção e metabolismo envolvendo os AGCC (CAMPOS, 1999), esses estudos concluíram que a deficiência leve de AGCC determina inicialmente alterações funcionais (diminuição da absorção) que podem progredir para alterações morfológicas (hipoplasia) quando esta deficiência é mais intensa ou prolongada.

É sabido que os AGCC exercem papel fundamental na fisiologia normal do cólon, onde constituem a principal fonte de energia para o colonócito, estimulam a proliferação celular do epitélio, o fluxo sanguíneo visceral e aumentam a absorção

de água e sódio da luz intestinal (SHEPPACH, 1992). Desta forma, os AGCC exercem efeitos tróficos sobre o intestino delgado e grosso.

A fermentação bacteriana tem efeitos metabólicos importantes na fisiologia colônica. (CAMPOS, 1999). A carga fermentável que chega ao cólon diariamente varia de 30 gramas (20 g de fibras/10 g de amido) a 80 gramas (40 g de fibras/40 g de amido) dependendo da quantidade e tipo de carboidrato na dieta. Esta carga produz, por meio da fermentação bacteriana, 300 a 800 mmol da AGCC nas fezes, capazes de formar 90 a 240 kcal, que representam 5 a 10% das necessidades energéticas totais do organismo. Mecanismo que talvez exerça um papel importante na manutenção do peso observada em alguns estudos.

Edralin (2002) observou que a ingestão de linhaça (40g/dia) por voluntários com menos de 65 anos, durante 3 meses, não promoveu alteração do peso. Porém, no grupo controle (consumo de dieta à base de trigo, 40g/dia) foi observado ganho de peso, o que sugere um efeito protetor da linhaça na manutenção do peso corporal. Os resultados do estudo de Dodin (2006) concordam com o citado anteriormente, neste estudo também foi ingerido 40g/dia de linhaça contra 40g/dia de germe de trigo porém o período de duração foi de 12 meses.

O mesmo efeito na manutenção do peso corporal foi verificado por Cintra (2006), quando comparou a ingestão da linhaça com amendoim, em ratos *Wistar*, neste estudo os animais foram divididos em grupos distintos para comparação da linhaça e do amendoim.

Os mecanismos pelos quais a linhaça pode atuar na manutenção do peso corporal requerem maiores investigações.

Especificamente em relação ao cólon, os AGCC constituem fonte fundamental de substrato energético, sendo que o butirato é reconhecido como a principal fonte de energia ao colonócito (NASSRI, 2008). Em ordem de preferência, os colonócitos metabolizam preferencialmente o butirato, propionato, acetato.

Em relação ao metabolismo nitrogenado, os AGCC diminuem a absorção de amônia (pela diminuição do pH), efeito com implicações importantes em pacientes com encefalopatia e insuficiência renal. A adição de fibras fermentáveis a dieta diminui a glicemia e a necessidade de insulina em diabéticos, por mecanismos relacionados a metabolitos dos AGCC. Outros efeitos incluem diminuição do colesterol sérico (propionato) e propriedade antibacterianas, prevenindo o

estabelecimento de bactérias patogênicas como espécies de *Salmonella* (ROYALL,1990).

## **5 Materiais e métodos**

O experimento será executado no Laboratório de Grãos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel e no Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição, UFPel Pelotas/RS.

O presente estudo trata-se de um subprojeto do projeto Influência da linhaça (*Linum usitatissimum*) nos níveis de colesterol e na atividade antioxidante em ratos hipercolesterolêmicos. Este trabalho já possui aprovação pelo Comitê de Ética da UFPEL (processo 23110. 000472/2010-09 CEEA 0472) (Anexo 1). Serão tomadas todas as medidas necessárias para o bem-estar dos animais, conforme recomendação do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), descritas no Manual sobre Cuidado e Usos de Animais de Laboratório (NRC, 2003).

### **5.1 Materiais**

#### **5.1.1 Obtenção e pré-tratamento**

##### **5.1.1.1 Linhaça, farelo e óleo de linhaça**

Os grãos de linhaça, espécie *Linum usitatissimum*, do tipo marrom, o farelo e o óleo serão provenientes, por doação, da Indústria de Óleos Vegetais Pazze Ltda (Panambi, RS, Brasil).

O farelo da linhaça será desengordurado com hexano na proporção 1:4 (m/v), homogeneizado e mantido em repouso por 24 horas, antes de ser filtrado em manta de algodão para retirada do solvente. Esse procedimento será repetido 6 vezes consecutivas. Para evaporação do excesso de solvente o farelo permanecerá em capela sob exaustão durante uma noite, posteriormente acondicionado em estufa ventilada a 40°C, durante 6 horas para total evaporação do solvente. O farelo seco e desengordurado será acondicionado em sacos plásticos e mantido sob refrigeração (8 a 10°C) até a elaboração das dietas.

##### **5.1.2 Animais para experimentação**

Serão utilizados ratos adultos, com 60 dias de idade, fêmeas (*Rattus*



*norvegicus*), da cepa *Wistar*/UFPel, pesando em média 200 a 300g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas/RS.

### 5.1.3 Ingredientes para as dietas

- Caseína pura (Synth)
- Amido de Milho (Comercial)
- Óleo de soja (Comercial)
- Fibra – hemicelulose (Microcel)
- Tetra-butilhidroquinona (Sigma)
- L-Cistina (Sigma)
- Bitartarato de colina (Sigma)
- Mix mineral (Formulado no laboratório com reagentes das marcas Sigma e Merck)
- Mix vitamínico (Farmácia de manipulação)
- Banha (Comercial)
- Colesterol (Sigma)
- Ácido cólico (Sigma)

## 5.2 Métodos

### 5.2.1 Ensaio Biológico

Será realizado ensaio biológico com 48 ratas fêmeas cepa *Wistar*/UFPel, divididas e distribuídas aleatoriamente em 8 grupos de 6 animais cada grupo, com dieta e água fornecidas *ad libitum*.

Os animais serão mantidos em gaiolas metabólicas individuais, com as seguintes características: medidas 27x19x20cm, produzida em arame de aço Inox Aisi 304 com polimento eletrostático, com pés de 35 cm de altura; comedouro tipo túnel e bebedouro de polipropileno com capacidade para 300 mL, rolha de borracha anti-ácida e bico de aço inoxidável curvo, além de funil para recepção das fezes e becker para coleta de urina (Modelo MA122 - Marca Beiramar).

Os animais serão mantidos no Laboratório de Ensaio Biológicos da Faculdade de Nutrição da UFPel, com temperatura e umidade relativa de  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  e 50 - 60%, respectivamente, com ciclo claro/escuro de 12 horas. O estudo terá duração de 54 dias, sendo 4 dias de adaptação e 50 dias de tratamento.

Serão coletas fezes por dois períodos distintos e armazenadas em freezer comum.

Ao final do experimento, após jejum de 12 horas, os animais serão submetidos à eutanásia por decapitação para a retirada do fígado, gordura peritoneal, ceco e conteúdo cecal.

As amostras de sangue serão coletadas em tubos de ensaio e centrifugadas a 3500rpm, à temperatura ambiente, por 10 minutos, sendo o plasma separado e armazenado a -18°C, até análise das frações lipídicas (DONGOWSKI, et al.; 2002). A medição da glicemia será realizada em glicosímetro Advantage Roche®, utilizando uma gota de sangue coletado em seguida da eutanásia.

Os animais serão laparotomizados para a coleta do fígado, sendo este lavado com soro fisiológico e seco com gaze. O fígado será pesado e separado em três partes, das quais duas serão congeladas separadamente, sendo uma para a quantificação dos lipídeos hepáticos e outra para análise histológica. O órgão será mantido a -80°C (ultralow freezer-Nuire Inc, MN, USA). Uma terceira parte será armazenada em formol 10% para análises histológicas posteriores.

Os cecos completos (com conteúdo) serão delimitados e pesados. Na sequência, o pH do conteúdo do ceco será aferido por meio de uma pequena incisão na parede do órgão, onde será introduzido eletrodo portátil de calibre de 5mm de diâmetro. O conteúdo do ceco será então coletado em tubos tipo Falcon e imediatamente congelado a -80°C para posterior quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta. Os cecos serão então lavados com soro fisiológico, secos cuidadosamente com gaze e pesados. Em seguida serão identificados e armazenados por imersão em formol 10%, mantidos à temperatura ambiente para futuras análises histológicas (KIM, et al., 1998; ADAM, et al., 2001; DONGOWSKI, et al., 2002).

Todo o material biológico não utilizado no experimento será descartado segundo as Normas de Segurança Laboratorial.

## **5.2.2 Dietas**

### **5.2.2.1 Composição centesimal da linhaça e farelo desengordurado**

A composição centesimal será determinada em amostras da linhaça e do farelo desengordurado segundo os respectivos procedimentos recomendados pela

Association of Official Analytical Chemistry (1995), sendo a determinação de carboidratos realizada segundo Dubois, 1956 e comparada com o cálculo do conteúdo de carboidratos obtido pela diferença entre 100% e a soma dos demais macronutrientes. A análise centesimal determinará os teores de proteína, umidade e cinzas, segundo os procedimentos descritos no manual da AOCS. Lipídios totais serão determinados pelo método descrito por Bligh & Dyer (1959).

#### **5.2.2.2 Preparo das dietas experimentais**

A partir da composição centesimal das matérias-primas, serão formuladas as dietas, conforme apresentado na Tabela 1. Todas as dietas serão preparadas no Laboratório de Nutrição Experimental – UFPel, seguindo o padrão dietético do Instituto Americano de Nutrição (AIN-93M) segundo Reeves et. al. (1993). As dietas experimentais serão preparadas previamente e armazenadas sob congelamento a -20°C em embalagens de polietileno.

Os animais serão alimentados com dieta padrão (AIN-93M) e controle hiperlipídica, modificando-se o teor de lipídeos de 4% para 25%, adicionando-se colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%) (ROSA et al., 1998), semente de linhaça triturada (7,5% e 15%), farelo resultante das concentrações 7,5% e 15 % e óleo da semente de linhaça nas concentrações 4% e 8% (concentração recomendada e dobro).

**TABELA 1.** Formulação das dietas experimentais.

Ingredientes (g)	Dietas (g)							
	N (P)	HL (C)	HL (L7,5%)	HL (L15%)	HL (F7,5%)	HL (F15%)	HL (O4%)	HL (O8%)
Sacarose	100	100	100	100	100	100	100	100
Amido de milho	465,472	232,472	217,592	202,802	210,162	184,812	232,472	232,472
Caseína	152,22	152,22	137,2	122,1	126,33	100,45	152,22	152,22
Amido dextrinizado	155	155	155	155	155	155	155	155
Óleo de soja	40	-	-	-	-	-	-	-
Fibra	50	50	31,58	13,16	23,49	-	50	50
Mix mineral	35	35	35	35	35	35	35	35
Mix vitamínico	10	10	10	10	10	10	10	10
L-cistina	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Tetra butilhidroquinona	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Banha suína	-	250	223,32	196,63	249,71	249,43	210	170
Colesterol	-	10	10	10	10	10	10	10
Ácido cólico	-	1	1	1	1	1	1	1
Linhaça triturada	-	-	75	150	-	-	-	-
Farelo desengordurado	-	-	-	-	75	150	-	-
Óleo de linhaça	-	-	-	-	-	-	40	80
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

**N:** Dieta Normal; - **P:** Grupo Padrão; **HL:** Dietas Hiperlipídica; - **C:** Grupo Controle; - **L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.

### 5.2.3 Delineamento experimental

O experimento constará de 48 animais resultantes do delineamento experimental inteiramente casualizado entre 8 grupos com 6 repetições (dieta x rato = 48), avaliando-se o consumo de dieta, ganho de peso, excreção fecal, lipídios fecais e hepáticos, colesterol total e frações, ação fermentativa da linhaça, totalizando 912 determinações, conforme Tabela 2.

**TABELA 2.** Delineamento experimental para avaliar a influência da linhaça em dietas hiperlipídicas nos parâmetros fermentativos e no metabolismo lipídico de ratos.

Tratamentos	Variáveis Independentes				Variáveis Dependentes
	Linhaça	Óleo	Farelo	Dieta	Avaliações
<b>1 Padrão</b>	0	0	0	N**	Variáveis a serem analisadas:
<b>2 Controle</b>	0	0	0	H***	Gordura peritoneal
<b>3 Linhaça</b>	7,5%	0	0	H	Fígado = peso, colesterol e lipídeos totais
<b>4 Linhaça</b>	15%	0	0	H	Plasma = ct e frações, triacilgliceróis
<b>5 Óleo</b>	0	4%	0	H	Fezes = colesterol, lipídeos e ácidos biliares
<b>6 Óleo</b>	0	8%	0	H	Massa fecal úmida e dessecada
<b>7 Farelo</b>	0	0	7,5%	H	Peso do ceco
<b>8 Farelo</b>	0	0	15%	H	Ácidos graxos no conteúdo do ceco pH do conteúdo do ceco Consumo de dieta Ganho de peso

\*CT: Colesterol total; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; HDL: Lipoproteína de alta densidade; VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade; TAG: Triacilgliceróis

8 dietas experimentais = 8 tratamentos x 6 ratos = 48 amostras x 21 avaliações = 1008 determinações. \*\* N - **Dieta Normal**: dieta padrão (AIN-93M); \*\*\* H - **Dieta Hiperlipídica**: 25% de teor lipídico, colesterol (1%), ácido cólico (0,1%).

Serão avaliadas dietas com adição de 7,5% e 15% de linhaça triturada, hiperlipídicas, dietas adicionadas do farelo desengordurado e dietas adicionadas com o óleo de linhaça (4 e 8%), sendo comparadas à dieta controle hiperlipídica (AIN-93M).

## 5.2.4 Avaliações

### 5.2.4.1 Composição centesimal

A composição centesimal será determinada na matéria-prima e em amostras das dietas experimentais conforme descrito no item 5.2.2.1.

### 5.2.4.2 Avaliação do perfil de ácidos graxos

Será identificado e quantificado o perfil de ácidos graxos do óleo de linhaça, farelo de linhaça e na linhaça triturada, segundo a AOCS, 1992. Os lipídios totais serão submetidos ao processo de transesterificação para a preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos. Os ésteres de ácidos graxos serão analisados por

cromatografia gasosa, modelo Shimadzu 17A, equipado com split e detector de ionização de chama (FID), coluna capilar de 30m x 0,25mm x 0,2µm de cyanopropyl phenyl-bicyanopropyl polysiloxane de fase. A temperatura programada será de 100°C por 0,5 minutos, seguindo a 180°C com incremento linear de 1,5°C/min, mantida por 5 minutos e finalmente a 220°C com incremento linear de 2°C/min, mantida por 6 minutos, com tempo total de corrida de 58,25 minutos. O injetor e o detector devem estar a 250°C.

#### **5.2.4.3 Ganho de peso, consumo de dieta e peso fecal**

Os animais serão pesados no início e a cada dez dias até o término do experimento. O consumo de dieta será o somatório de avaliações diárias entre a dieta fornecida e a consumida durante o experimento. As fezes serão recolhidas em dois períodos do experimento por 10 dias consecutivos cada, pesadas e armazenadas sob congelamento em sacos de polietileno e ao final do experimento serão analisadas.

#### **5.2.4.4 Perfil lipídico**

As frações plasmáticas de colesterol total, triacilgliceróis e HDL-colesterol serão determinadas utilizando *kits* enzimáticos comerciais.

O sangue coletado será centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos para se obter o plasma sangüíneo, que será transferido para Eppendorfs e congelado a -20°C até o momento das análises. O colesterol total sérico será quantificado por sistema enzimático Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform cat. 76-2/100.

O colesterol HDL será determinado através da precipitação das lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (c-LDL e c-VLDL), utilizando o sistema enzimático Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform cat. 13. O VLDL será calculado pela fórmula de  $VLDL = \text{Triacilglicerol} / 5$  e o LDL pela diferença entre colesterol total (CT) e (HDL + VLDL)  $LDL = [CT - (HDL + VLDL)]$  (FRIEDWALD et al., 1972).

Os triacilgliceróis serão determinados pelo sistema enzimático Labtest Diagnóstica® (GPO-ANA cat. 59-4/50).

#### **5.2.4.5 Lipídios hepáticos**

Para a análise dos lipídios hepáticos as amostras dos fígados dos animais serão maceradas, utilizando-se uma alíquota de fígado de cada animal do grupo. Será utilizado o método de Bligh e Dyer (1959) para extração dos lipídios totais.

#### **5.2.4.6 Umidade e lipídios fecais**

Ao final do experimento, as fezes armazenadas congeladas serão transferidas para placas de petry e levadas à estufa (50° C) até peso constante, para avaliação da umidade. Após a desumidificação, as amostras de fezes serão maceradas e analisadas quanto ao teor de lipídeos totais de acordo com método de Bligh e Dyer (1959).

#### **5.2.4.7 Fibras nas fezes**

Para a análise de fibra alimentar (solúvel e insolúvel) será utilizado o método recomendado pela AOAC, 1999 (Total, Soluble and Insoluble Dietary Fiber in Foods).

#### **5.2.4.8 Determinação de ácidos biliares nas fezes**

Os ácidos biliares serão extraídos das fezes dessecadas segundo Van der MEER et al. (1985) com a utilização de tert-butanol a 50% por 15 minutos a 37°C, seguido de centrifugação a 10.000g por 2 minutos.

A quantificação será realizada por meio de *kit* enzimático colorimétrico. Na presença de Tio-NAD, a enzima 3- $\alpha$  hidroxisteróide desidrogenase (3- $\alpha$  HSD) converte os ácidos biliares a 3-ceto-esteróides e Tio-NADH. A taxa de formação de Tio-NADH é determinada pela mudança de absorbância a 405nm, mensurada entre 60 e 120 segundos de reação. A leitura será realizada em Espectrofotômetro UV-Visível.

As determinações serão realizadas em triplicata.

#### **5.2.4.9 Quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta**

A extração dos AGCC no conteúdo do ceco será realizada segundo ZHAO e col. (2005), com algumas modificações. Meio grama de conteúdo do ceco será suspenso em 5 mL de água e homogeneizado por 3 minutos. O pH da suspensão cecal será

ajustado entre 2 e 3 pela adição de solução de HCl 5M. Esta suspensão será então transferida para tubos de polipropileno e centrifugada por 20 minutos a 5000 rpm, obtendo-se um sobrenadante limpo que será injetado em cromatógrafo gasoso para quantificação dos AGCC.

Será utilizado cromatógrafo gasoso modelo GC-2010 (Shimadzu Scientific Instruments INC, Japan) e coluna capilar de sílica Nukol, com dimensões de 30 cm, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura de filme (Supelco, USA). Como gás de arraste será utilizado hidrogênio ao fluxo de 1,8 mL/min. A temperatura inicial do forno será de 100°C mantida por 0,5 minutos, seguida com taxa de aumento de 8°C/min até 180°C, mantida por 1,0 minutos, seguindo-se taxa de aumento de 20°C/min até 200°C, sendo mantido nesta temperatura por 5 minutos. A temperatura do detector de chama (FID) e injetor serão de 240°C e 200°C respectivamente, e o volume de injeção de 1 µL, com split de 1:2 (AOAC, 1992; ZAMBIAZI, 1997).

Para identificação será utilizada comparação do tempo de retenção utilizando como padrão externo mistura de ácidos graxos de cadeia curta livres (Volatile free acid mix, Cód. 46975, sigma Aldrich, USA). A quantificação será realizada através da curva padrão nas concentrações de 2 a 10 mM.

As determinações serão realizadas em triplicatas.



## **6 Análise estatística**

Será utilizada a análise de variância ANOVA, seguido do teste de Tukey, quando indicado, considerando como nível de significância estatística, o limite de 5% (Statistica versão 7.0).

## 7 Cronograma de atividades

ATIVIDADES	1º ANO		2º ANO	
	1º sem.	2º sem.	1º sem.	2º sem.
Revisão bibliográfica				
Ensaio preliminares				
Determinações químicas				
Ensaio biológico				
Determinações bioquímicas				
Processamento de dados				
Divulgação dos resultados				

## 8 Referências

AACC. **Cereal Foods World**, v.46, n.3, p.112-129, 2001.

ADAM, A.; LEVRAT-VERNY, M. A.; LOPEZ, H. W.; LEUILLET, M.; DEMIGNÉ, C.; RÉMESY, C. Whole wheat and triticale flours with differig viscosities stimulate cecal fermentations and lower plasma and hepatic lipids in rats. **Journal of Nutrtnion**, v.131, n.6, p.1770-1776, 2001.

AHMED, Z.S. Physico-chemical, structural and sensory quality of corn-based flaxsnack. **Nahrung** v.43, n. 4, p.253-258, 1999.

ALMARIO, R. U.; VONGHAVARAVAT, V.; WONG. R.; KARAKAS, S. E. K. Effects of walnut consumption on plasma fatty acids and lipoproteins in combined hyperlipidemia. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.74, n.1, p.72-79, 2001.

AOCS. American Oil Chemists' Society. Official and tentative methods of the Americans Olis Chemist's Society, Champaign, IL., 1992.

AOAC INTERNATIONAL. Total, Soluble and Insoluble Dietary in Foods: Method 991,43- First action 1991- Final Action 1994 In: Official Methods of Analysis of AOAC International, 16<sup>a</sup> ed., 5<sup>a</sup> rev. Gaithersburg, c 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 16th ed. Washington, DC; 1995.

BHATHENA S.J.; ALI, A.A; HAUDENSCHILD, C.; LATHAM, P.; RANICH, T.; MOHAMED, A. I.; HANSEN, C. T.; VELASQUEZ, M. T. Dietary flaxseed meal is more protective then soy concentrate against hypertriglyceride and steatosis of the liver in animal modelo f obesity. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 22, n.2, p. 157-64, 2003.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução n. 18*, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução n. 19*, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Brasília, 1999b.

CAMPOS, F. G.; HABR-GAMA, A.; PLOPPER, C.; TERRA, R. M.; WAITZBERG, D. L. Ácidos graxos de cadeia curta e doenças colorretias. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 19, n. 1, p. 11-16, 1999.

CHEN, H-H; XU, S-Y; WANG, Z. Interaction between flaxseed gum and meat protein. **Journal of Food Engineering**. v. 80, n.4, p 1051-1059, 2007.

CINTRA, D. E. C.; COSTA, A. G. V.; PENUZIO, M. C. G.; MATTA, S. L. P.; SILVA, M. T.; COSTA, N. M. B. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout or chicken skin. **Nutrition**, v.22, n.2, p.197-205, 2006.

COLLINS, T. F. X.; SPRANDO, R. L.; BLACK, T. N.; OLEJNIK, N.; WIESENFELD, P. W.; BABU, U. S.; BRYANT, M.; FLYNN, T. J.; RUGGLES, D. I. Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.41, n.6, p.819–834, 2003.

COOK, S. I.; SELLIN, J. H. Review article: short-chain fatty acids in health and disease. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**. v.12, n.6, p 499-507, 1998.

DAUN, J. K.; BARTHET, V. J.; CHORNICK, T. L.; DUGUID, S. Structure, composition, and variety development of flaxseed. In: THOMPSON, L. U.; CUNNANE, S. C. Flaxseed in Human Nutrition. AOCS PRESS, 2.ed., p. 1-40, 2003.

DE VRIES, J.W.; RADER, J.I. Historical perspective as a guide for identifying and developing applicable methods for dietary fiber. **Journal of AOAC International** v. 88, n.5, p.1349-1366, 2005.

DODIN, S.; LEMAY, A.; JACQUES, H.; LÉGARÉ, F.; FOREST, C.; MÂSSE, A. The effects of flaxseed dietary supplement on lipid profile, bone mineral density, and symptoms in menopausal women: A randomized, double – blind, wheat germ placebocontrolled clinical trial. **Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, v.90, n.3, p.1390-1397, 2006.

DONGOWSKI, G.; HUTH, M.; GEBHARDT, E.; FLAMME, W. Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. **Journal of Nutrition**, v.132, n.12, p.3704-3714, 2002.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**. v. 3, n. 3, 1956.

EDRALIN, A. R.; WILD, R. D.; HAMMOND, L. J.; KHALIL, D.A; JUMA, S.; DAGGY, B. P.; STOECKER, B. J.; ARJMANDI, B. A. Flaxseed improves lipid profile without altering biomarkers of bone metabolism in postmenopausal women. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 87, n. 4, p. 1527- 1532, 2002.

FAO/WHO Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. Carbohydrates in human nutrition. Report of a join FAO/WHO expert consultation. 66. Rome 1998.

FILISSETTI, T. M. C. C., LOBO, A. R. Fibra alimentar e seu efeito na biodisponibilidade de minerais. In: Cozzolino, SMF. Biodisponibilidade de nutrientes. 2ª ed. Barueri: Manole Ltda; 2007.

FRIEDWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v.18, p.499-502, 1972.

GÖNI I, Martin-Carrón N, Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. In Lajolo FM, Saura-Calixto F, Penna E W, Menezes E W. **Fibra dietética em iberoamérica: tecnologia e salud: obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación em alimentos**. São Paulo: Livraria Varela; 2001. P 311-38.

GRECA, F. H.; SIMÕES, M.de L. P. B.; MARTINS, V.D.M.; ARAÚJO, F. H. de; MILANO, J. B. Os ácidos graxos de cadeia curta na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. v. 30, n.4, p.268-274, 2003.

JONES, J.R.; LINEBACK, D.M.; LEVINE, M.J. Dietary reference intakes: implications for fiber labelin and consumption: a summmary of the International Life Sciences Institute North America fiber workshop, june 1-2, 2004, Washington, DC. **Nutrition Reviews**, v.64, n.1, p.31-38, 2006.

KIM, M.; SHIN,H. K. The Water-Soluble Extract of Chicory Influences Serum and Liver Lipid Concentrations, Cecal Short-Chain Fatty Acid Concentrations and Fecal Lipid Excretion in Rats. **Journal of Nutrition**, v.128, n.10, p.1731-1736, 1998.

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

MARQUES, Anne. **Propriedades funcionais da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos**. 2008. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de

Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MATIAS, Andrea C. G. **Avaliação de efeitos fisiológicos da fração fibra alimentar dos grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) e linhaça (*Linum usitatissimum* L.).** 2007. 111p. Tese (Doutorado em Saúde Pública)- Faculdade de Nutrição, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MORRIS, D. H. Essential nutrients and other functional compounds in flaxseed. **Nutrition Today**, v. 33, n.3, p.159, 2001.

NASSRI, C. G. G.; NASSRI, A. B.; FAVERO, E.; ROTTA, C. M.; MARTINEZ, C. A. R.; MARGARIDO, N. F. Influência da Irrigação de Soluções Nutricionais no Colo Excluído de Trânsito Intestinal. Estudo Experimental em Ratos. **Revista brasileira de Coloproctologia**, v.28, n.3, p.306-314, 2008.

OOMAH, B.D. Flaxseed as a functional food source. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.81, p.889-894, 2001.

PAYNE, T.J. Promoting Better Health with Flaxseed in Bread. **Cereal Foods World**, v.45, n.3, 2000.

RAFTER, J.J. Scientific basis of biomarkers and benefits of functional foods for reduction of disease risk: cancer. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. 2, p.219-224, 2002.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR., G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee and the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v.123, n.11, p.1939-1951, 1993.

RIEDIGER, N.D.; AZORDEGAN, N.; JANZ, S. H.; MA, D. W. L.; SUH, M.; MOGHADASIAN, M. H. Designer oils' low in n-6:n-3 fatty acid ratio beneficially modifies cardiovascular risks in mice. **European Journal of Nutrition**, v.48, p. 307-314, 2009.

ROSA, C. O. B; COSTA, N. M. B; NUMES, R. M. Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioca e vermelho na redução de colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v.48, n.4, p.306-310, 1998.

ROWE, W. A.; BAYLESS, T. M. **Gastroenterology**. v.103, p. 306-339, 1992.

ROYALL, D.; WOLEVER, T. M. S.; JEEJEEBHOY, K. Clinical significance of colonic fermentation. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 85, p. 1307-12, 1990.

RUIZ-ROSO, B., PÉRES-OLLEROS, L., GARCÍA-CUEVAS, M. Influencia de la fibra dietaria (FD) en la biodisponibilidad de los nutrientes. In: Lajolo FM, Calixto FS, Penna EW, Menezes EW. Fibra dietética en iberoamérica: tecnología y salud. São Paulo: Varela Ltda; 2001.

WHO (WHORLD HEALTH ORGANIZATION). 2008-2013 Action Plan for the Global Strategy for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. p.7, 2008.

SALES, Rejane L. de. **Efeitos do amendoim e da linhaça no perfil lipídico, composição corporal e processo inflamatório em indivíduos com excesso de peso**. 2009. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerias.

STAVRO, P. M.; MARCHIE, A. L., KENDALL, C. W. C.; VUKSAN, V.; JENKINS, D. J. Flaxseed, Fiber, and Coronary Heart Disease: Clinical Studies. In: THOMPSON, L. U.; CUNNANE, S. C. Flaxseed in Human Nutrition. AOCS PRESS, 2.ed., p. 288-300, 2003.

SHEPPACH, W.; BARTRAN, P.; RICHER, F.; LIEPOLD, H.; DUSEL, G.; RUTHLEIN, J.; KASPER, H. Effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa in vitro. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 16, p 43-48, 1992.

TRUCOM, Conceição. A importância da linhaça na saúde. 1.ed. São Paulo: Alaúde; 2006. 152p.

TODESCO, T.; RAO, A. V.; BOSELLO, O.; JENKINS, D. J. A. Propionate lowers blood glucose alters lipid metabolism in health subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.54, p.860, 1991.

VAN DER MEER, R.; VRIES, H.; GLATZ, F. C. T butanol extraction of feces: a rapid procedure for enzymic determination of fecal bile acids. In: Beyben AC, Geeleb MJH, Katan MB, Schoyten JA. **Cholesterol metabolism in health and disease: studies in the Netherlands**. Wageningen: Ponsen & Looijen; 1985. p 113-19.

VANHARANTA, M.; VOUTILAINEN, S.; LAKKA, T.; VAN DER LEE, M.; ADLERCREUTZ, H.; SALONEN, J. Risk of acute coronary events according to serum concentrations of enterolactone: a prospective population-based case-control study. **The Lancet**, v.354, n. 9196, p. 2112-2115, 1999.

VILLARROEL, M.; PINO, L.; HAZBUN, J. Desarrollo de una Formulación Optimizada de Mousse de Linaza (Linum Usitatissimum). **Archivos Latinoamericanos de Nutrição**, v.56, n.2, p.185-191, 2006.

ZAMBIAZI, R. C. The oil of endogenous lipid components on vegetable oil stability. Tese de doutorado. p. 304. Foods and nutritional science interdepartmental program. University of Manitoba, Winipeg, Manitoba-Canada, april, 1997.

ZHAO, G., NYMAN, M.; JONSSON, J. A. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. **Biomedical chromatography**, v.20, p. 674-682, 2006.



## **Anexo 1**

**Alterações no projeto de pesquisa**

O método de extração e as condições da corrida no CG para a análise de identificação e quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta foi modificado.

A extração dos ácidos graxos de cadeia curta foi feita segundo Zambiasi (1997) ao invés da metodologia proposta por Zhao et al. (2005).

As análises histológicas previstas para o fígado não foram realizadas.

## Artigo 1

**Efeito da linhaça (*Linum usitatissimum*), farelo desengordurado e óleo de  
linhaça no metabolismo lipídico e glicídico em ratos *Wistar*<sup>1,2,3</sup>**

**Effect of flaxseed (*Linum usitatissimum*), defatted bran and flaxseed oil on  
lipid and glycemic metabolism in *Wistar* rats**

Carolina Galarza Vargas<sup>3,6\*</sup>, Lúcia Rota Borges<sup>4,6</sup>, Giovana Duzzo Gamaro<sup>5,7</sup>,  
Elizabete Helbig<sup>3,6</sup>

<sup>3</sup> – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos / Universidade Federal de Pelotas.

<sup>4</sup> – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial / Universidade Federal de Pelotas.

<sup>5</sup> - Programa de Pós Graduação em Bioquímica/ Universidade Federal Pelotas.  
Endereço: Campus Universitário, s/nº. Pelotas, RS – Brasil

TÍTULO REDUZIDO: Linhaça no metabolismo lipídico e glicídico

NÚMERO DE PALAVRAS: 5.691; NÚMERO DE FIGURAS: 1; NÚMERO DE  
TABELAS: 5

LISTA DE AUTORES PARA INDEXAÇÃO: Vargas, Borges, Gamaro, Helbig

<sup>1</sup> - Este projeto teve apoio financeiro da FAPERGS ARD processo 10/0489-0 e  
CAPES

<sup>2</sup> - Comunicado dos autores: CG Vargas, LR Borges, GD Gamaro, E Helbig

\*- Correspondências devem ser endereçadas ao e-mail:  
[carolgalarza15@hotmail.com](mailto:carolgalarza15@hotmail.com)

<sup>6</sup> - Endereço atual: Rua General Sampaio, 258, apto 101. CEP: 95097-000.  
Fone: (54)32267638. Caxias do Sul, RS – Brasil.

<sup>7</sup> – Endereço atual: Campus Universitário, s/nº. Pelotas, RS – Brasil

<sup>8</sup> – Abreviaturas utilizadas: ALA ( $\alpha$ -linolênico), COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), LCAT (enzima lecitina-colesterol acil transferase), QEA (quociente de eficiência alimentar), UFPEL (Universidade Federal de Pelotas)

O manuscrito encontra-se nas normas da Revista The Journal of Nutrition (disponível em <http://jn.nutrition.org/site/misc/ifora.xhtml>), revista escolhida pelos autores para submissão, após apreciação da banca avaliadora.

## 1 RESUMO

2 O presente estudo objetivou verificar o efeito da suplementação de dietas  
3 hipercolesterolêmicas com óleo, farelo desengordurado e semente de linhaça  
4 triturada, em duas concentrações, sobre o metabolismo lipídico e glicídico de  
5 ratos *Wistar*. 48 fêmeas, distribuídas em 8 grupos, foram induzidas à  
6 hipercolesterolemia, com exceção do grupo padrão, pelo período de 50 dias.  
7 Nesse período, avaliou-se o consumo alimentar, ganho de peso, quociente de  
8 eficiência alimentar (QEA) e a excreção fecal, esta última, por 10 dias. Após o  
9 término do tratamento, os animais foram eutanasiados para coleta de soro e  
10 fígado para análises de colesterol total e frações, triacilgliceróis séricos,  
11 colesterol e lipídeos totais hepáticos e fecais, excreção de ácidos biliares nas  
12 fezes, glicemia e circunferência abdominal. Não houve diferença entre os  
13 grupos para ganho de peso, consumo alimentar e para o QEA. Todos os  
14 tratamentos foram eficientes na redução do colesterol sérico, com exceção do  
15 grupo farelo 7,5%, sendo que os melhores efeitos em relação ao perfil lipídico  
16 foram evidenciados nos grupos suplementados com óleo de linhaça. Já em  
17 relação à redução de lipídeos e colesterol hepáticos, bem como ao aumento da  
18 excreção de lipídeos e colesterol fecais os grupos suplementados com linhaça  
19 e farelo apresentaram efeito mais pronunciado. Não houve diferença na  
20 excreção fecal de sais biliares nem na glicemia de jejum. Conclui-se que  
21 apesar do óleo exercer os melhores efeitos no perfil lipídico, o consumo de  
22 linhaça e de farelo desengordurado também resultou em efeito satisfatório  
23 sobre o metabolismo lipídico em ratos.

24

25

## INTRODUÇÃO

A crescente morbimortalidade relacionada às doenças crônico-degenerativas não transmissíveis como câncer, diabetes, hipertensão, doenças coronarianas e obesidade representa uma forte ameaça à saúde humana. Essas doenças têm sido apontadas como as maiores causas de morte no mundo, sendo responsáveis por um número estimado de 35 milhões de mortes por ano, 60% de todas as mortes a nível mundial, dados que apontam para a necessidade da adoção de medidas que visam à prevenção e a cura das mesmas (1).

A população mundial tem demonstrado crescente preocupação com a alimentação e seus constituintes (2), uma vez que o tipo e a qualidade da alimentação consumida têm sido mencionados no conjunto dos fatores de relevância para a prevenção de algumas doenças crônico-degenerativas não transmissíveis (3-5).

Dessa forma, não raro, pesquisas apontam que maior ou menor ingestão de certos alimentos pode prevenir ou tratar doenças. Esta realidade tem incentivado a indústria alimentícia a investir em produtos saudáveis e nos alimentos com propriedades funcionais. Entre os alimentos com estas características, de acordo com Marques (2), encontra-se a linhaça (*Linum usitatissimum*).

Esse grão oleaginoso, de cor marrom ou amarelo dourado é rico em ácidos graxos poliinsaturados  $\alpha$ -linolênico (ALA) e, em menor quantidade, linoléico (AL), além de conter teores significativos de proteína vegetal, lignanas, fibra alimentar solúvel e insolúvel, goma ou mucilagem, ácidos fenólicos, flavonóides, vitaminas e minerais. Essas substâncias conferem propriedades

funcionais à linhaça, em função dos benefícios que proporcionam à saúde (6,7).

Considerando que as doenças cardiovasculares têm se destacado por serem as principais causas de morte e incapacidade no mundo ocidental (8), e entre um dos principais fatores de risco encontram-se as dislipidemias (3), torna-se de suma importância avaliar a função hipocolesterolêmica da linhaça. Estudos mostram que a fibra alimentar solúvel contida neste grão pode contribuir para a redução dos níveis de colesterol plasmático por meio da inibição da absorção intestinal de colesterol e ácidos biliares (9). O efeito hipocolesterolêmico da linhaça também é atribuído à presença de ácido  $\alpha$ -linolênico e lignanas (10).

Pesquisas evidenciam a redução do risco cardiovascular com o consumo das sementes oleaginosas ao invés do óleo produzido a partir delas. Isso se deve pelo fato de que além da fonte de ácidos graxos benéficos (poli e monoinsaturados), elas são fontes de outros nutrientes que podem auxiliar na redução deste risco, como os fitosteróis, as fibras solúveis, os minerais e a proteína vegetal (11).

Tendo em vista as propriedades funcionais da linhaça e as diferentes formas de consumo da mesma, este estudo teve por objetivo verificar o efeito da suplementação de dietas hipercolesterolêmicas com óleo, farelo desengordurado e semente de linhaça triturada, em duas concentrações, sobre o metabolismo lipídico de ratos.



## MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado ensaio biológico com ratos, utilizando-se 48 fêmeas cepa *Wistar/UFPel*, divididas e distribuídas aleatoriamente em 8 grupos de 6 animais cada grupo, com dieta e água fornecidas *ad libitum*, mantidas em gaiolas metabólicas individuais, com temperatura e umidade relativa de  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  e 50 - 60%, respectivamente, com ciclo claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram alimentados com dieta padrão (P) elaborada conforme recomendação do *American Institute of Nutrition* (AIN-93M) segundo Reeves et al. (12) e dieta controle hiperlipídica (H), com modificação no teor de lipídeos de 4% para 25% e adição de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%) (13). Os tratamentos eram compostos da dieta hiperlipídica acrescida de semente de linhaça triturada nas concentrações 7,5% e 15% (HL7,5% e HL15%), de farelo desengordurado nas concentrações 7,5% e 15% (HF7,5% e HF15%) e de óleo da semente de linhaça nas concentrações 4% e 8% (concentração recomendada pela AIN-93M e dobro), (HO4% e HO8%) conforme apresentada na **Tabela 1**.

O estudo teve duração de 54 dias, sendo 4 dias de adaptação e 50 dias de tratamento.

Durante o ensaio biológico, o ganho de peso foi monitorado por meio de pesagens, no início e a cada 10 dias, e o consumo de dieta por meio do somatório de avaliações diárias entre a dieta fornecida e a consumida. O quociente de eficiência alimentar (QEA) foi obtido a partir da divisão do ganho de peso total (g) pela ingestão alimentar (g). As fezes foram recolhidas em um período de 10 dias consecutivos, pesadas e armazenadas sob congelamento

em sacos de polietileno para que no final do experimento fossem quantificados lipídeos, colesterol total e ácidos biliares.

Ao final do experimento, após jejum de 12 horas, os animais foram submetidos à eutanásia por decapitação.

Os animais foram laparotomizados para a coleta do fígado, sendo este lavado com soro fisiológico e seco com gaze. O órgão foi pesado e armazenado a -80°C (ultralow freezer-Nuire Inc, MN, USA) até a quantificação dos lipídeos e do colesterol total hepático.

Para a análise do colesterol total hepático as amostras dos fígados dos animais foram maceradas, utilizando-se uma alíquota de fígado de cada animal do grupo. Primeiramente foi retirada a umidade do órgão em estufa a 60°C por 24 horas. Após esse período foram processados 0,5g da amostra já seca e a ela adicionou-se 5mL de isopropanol, solvente utilizado para solubilizar o colesterol presente. Posteriormente a amostra permaneceu em geladeira por 24 horas. Após decantação a amostra foi centrifugada por 10 minutos a 3000 rotações por minuto (rpm). As concentrações de colesterol sérico e hepático foram obtidas pela análise fotolorimétrica do produto enzimático em espectrofotômetro (ULTROSPEC modelo 2000 UV/Visível), utilizando kit enzimático comercial Labtest Diagnóstica®. O comprimento de onda utilizado nas leituras foi de 500nm.

As amostras de sangue foram coletadas em tubos de ensaio e centrifugadas a 3500rpm, à temperatura ambiente, por 10 minutos, sendo o soro separado e armazenado a -18°C, até análise das frações lipídicas (14). As frações sorológicas de colesterol total, triacilgliceróis e HDL-colesterol foram determinadas utilizando kits enzimáticos comerciais Labtest Diagnóstica®. O

colesterol total sérico foi quantificado por sistema enzimático Labtest Diagnóstica<sup>®</sup> colesterol liquiform cat. 76-2/100. O colesterol HDL foi determinado por precipitação das lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (c-LDL e c-VLDL), utilizando o sistema enzimático Labtest Diagnóstica<sup>®</sup> colesterol liquiform cat. 13. Os triacilgliceróis foram determinados pelo sistema enzimático Labtest Diagnóstica<sup>®</sup> (GPO-ANA cat. 59-4/50). O VLDL foi calculado pela fórmula de  $VLDL = \text{Triacilglicerol}/5$  e o LDL pela diferença entre colesterol total e  $(HDL + VLDL)$  (15).

A medição da glicemia foi realizada em glicosímetro Advantage Roche<sup>®</sup>, utilizando uma gota de sangue coletado em seguida da eutanásia. A circunferência abdominal foi aferida por meio de fita métrica inextensível de 1 metro.

Após a desumidificação, as amostras de fezes foram maceradas e analisadas quanto ao teor de lipídeos totais de acordo com método proposto por Bligh e Dyer (16), que utiliza clorofórmio e metanol como solventes para extração da gordura. Também foram quantificados o colesterol total por meio de kit enzimático comercial da marca Labtest Diagnóstica<sup>®</sup> e os ácidos biliares segundo método descrito por Van der MEER et al. (17). Os lipídeos foram extraídos das fezes dessecadas com tert-butanol a 50% por 15 minutos a 37°C, seguida de centrifugação a 10.000 rpm por 2 minutos em micro centrífuga refrigerada (CIENTEC CT-15000 R). A quantificação foi realizada com kit enzimático colorimétrico (Dyazyme – DZ042A – San Diego, EUA). Na presença de Tio-NAD, a enzima 3- $\alpha$  hidroxisteróide desidrogenase (3- $\alpha$  HSD) converte os ácidos biliares a 3-ceto-esteróides e Tio-NADH. A taxa de formação de Tio-NADH é determinada pela mudança de absorbância a 405nm, mensurada aos

60 e 120 segundos de reação. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (T80 UV/Visível - PG Instruments).

O estudo foi desenvolvido de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação com Animais, com aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Foram tomadas todas as medidas necessárias para o bem-estar dos animais, conforme recomendação do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), descritas no Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório (18).

As variáveis foram apresentadas como médias  $\pm$  desvios padrão. Foi utilizada a análise de variância ANOVA, seguido do teste estatístico de Tukey, considerando como nível de significância estatística, o limite de 5%. Utilizou-se o programa Statistica versão 7.0.

## RESULTADOS

Não foi verificada diferença estatística quanto ao ganho de peso total entre os grupos durante o experimento (**Tabela 2**). Observa-se que não houve diferença significativa para o consumo de dieta, total e médio diário (g), entre os grupos experimentais, da mesma forma que para o Quociente de Eficiência Alimentar (QEA). A circunferência abdominal também não variou entre os grupos ( $p>0,05$ ).

Na avaliação dos lipídeos plasmáticos, mostrada na **Tabela 3** é possível observar que a maioria dos grupos reduziu o colesterol total sérico (CT) quando comparado ao grupo controle (hiperlipídico) ( $p<0,05$ ), com exceção do grupo HF 7,5%, sendo a maior redução observada no grupo HO 8%. Quanto aos triacilgliceróis (TAG) as dietas suplementadas com farelo desengordurado em

ambas as concentrações (7,5% e 15%) e com óleo na menor concentração (4%) não produziram efeito ( $p>0,05$ ). Entretanto as dietas com linhaça (7,5% e 15%), bem como com óleo a 8% foram efetivas na redução dos TAG ( $p<0,05$ ).

Observou-se ainda que numa dieta hiperlipídica, o maior consumo de linhaça (15%), ou de farelo desengordurado nas duas concentrações (7,5% e 15%), tem efeito benéfico sobre a fração col-HDL. As dietas que mostraram efeito redutor para a fração col-LDL foram HL 7,5% e HL 15%, HF 15%, HO 4% e HO 8% ( $p>0,05$ ). Já para a fração col-VLDL foram linhaça (7,5% e 15%) e óleo na maior concentração (8%) ( $p<0,05$ ).

Verificou-se que apenas no grupo alimentado com dieta hiperlipídica suplementada com farelo desengordurado na concentração de 15% (HF 15%) ocorreu redução, de 15,67%, no tamanho do fígado em relação ao grupo controle (hiperlipídico) ( $p<0,05$ ). Resultado que corrobora ao observado para o acúmulo de gordura nesse órgão, no qual os animais suplementados com dietas hiperlipídicas acrescidas de 15 % de farelo desengordurado e de linhaça obtiveram redução, de 6,18% e 18,5% respectivamente, ( $p<0,05$ ), enquanto que a utilização de óleo de linhaça contribuiu para o desenvolvimento de esteatose hepática. Por outro lado, todos os tratamentos foram efetivos na redução do colesterol total hepático ( $p<0,05$ ), sendo que o farelo desengordurado na concentração de 15% promoveu a maior redução. Dados mostrados na **Tabela 4**.

Na **Figura 1** observa-se a glicemia de jejum dos ratos tratados com as diferentes dietas, ressalta-se que não ocorreu diferença significativa para esta variável quando comparadas as diferentes dietas entre si ( $p>0,05$ ).

Um aumento significativo de excreção de gordura pelas fezes foi evidenciado pelos grupos alimentados com farelo desengordurado e linhaça, nas duas concentrações estudadas ( $p < 0,05$ ), efeito não observado nos grupos alimentados com a dieta enriquecida de óleo de linhaça ( $p > 0,05$ ). **A Tabela 5** mostra que a maior excreção de colesterol total nas fezes foi observada no grupo alimentado com farelo desengordurado na concentração de 15%. Entretanto nenhuma dieta resultou em maior excreção fecal de ácidos biliares ( $p > 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

O consumo de dieta total e diário, bem como o ganho de peso apresentado pelos tratamentos em estudo não diferiram significativamente. Embora existam relatos de estudos em que a ingestão de dietas ricas em fibras causa aumento na saciedade promovendo assim redução do apetite, os resultados do presente estudo não mostraram associação entre o consumo de fibras e redução na quantidade de dieta ingerida.

Cintra et al. (5) em estudo com ratos *Wistar*, no qual avaliaram o perfil lipídico de animais submetidos à dietas hipercolesterolemiantes acrescidas de diferentes fontes de ácidos graxos poli, mono e saturados, também não observaram diferença significativa no ganho de peso tampouco no consumo alimentar dos animais, assim como o QEA não diferiu entre os grupos. O QEA é representado pela razão entre o ganho de peso e o consumo alimentar, é de grande importância para a determinação do quanto os nutrientes ingeridos são utilizados pelo organismo. Da mesma forma, Marques et al. (2) quando investigaram em ratos o efeito da linhaça sob diferentes formas de preparo não

observaram diferença entre os grupos. Fernandes et al. (19) avaliando a evolução ponderal de ratos alimentados com linhaça marrom e dourada encontraram diferença significativa no aumento da massa corporal dos animais do grupo controle ( $p < 0,001$ ) em relação aos dos grupos tratamentos, os quais não apresentaram diferença entre si.

A circunferência abdominal não diferiu entre os grupos estudados. No trabalho realizado por Rocha (20) que determinou os efeitos do resveratrol sobre parâmetros morfométricos e nutricionais de ratos suplementados com etanol e com etanol associado à sacarose, a circunferência abdominal também não apresentou diferença significativa entre os grupos experimentais. Enquanto na investigação feita por Junqueira et al., (21), a qual objetivou desenvolver e caracterizar um modelo experimental de obesidade em ratos por injeção subcutânea de glutamato monossódico, foram observados, para ambos os sexos estudados, resultados significantes na comparação entre os grupos controle e tratamento para a circunferência abdominal, tendo sido encontrado aumento de até 37,69% para o grupo de fêmeas no qual a administração de glutamato monossódico foi de 8mg/g de peso corporal.

No presente estudo a adição de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico promoveu elevação das concentrações de colesterol em percentuais significativos (45,5% de aumento no grupo alimentado com a dieta hiperlipídica em relação a padrão), mesmo efeito promovido no estudo de Rosa et al.(13) seguindo o mesmo protocolo e de Prasad (22) adicionando 0,5% de colesterol à dieta. Resultado que não foi evidenciado por Melo et al. (23) cuja adição de 1% de colesterol à dieta de ratos não promoveu hipercolesterolemia em níveis

significativos, o que foi justificado, possivelmente, pelo fato de os ratos serem considerados muito jovens para produzir algum efeito no perfil lipídico.

A análise referente à concentração de colesterol sérico mostrou que a maioria dos tratamentos, com exceção do grupo HF 7,5%, foram eficientes em evitar o aumento do colesterol total provocado pelo consumo de dieta hipercolesterolêmica ( $p < 0,05$ ), sendo que a maior redução foi evidenciada no grupo alimentado com dieta acrescida de 8% de óleo de linhaça, representando 45,72% de redução nos níveis de colesterol sérico. Estudos relacionados à ingestão de alimentos fontes de ácidos graxos ( $\omega$ -6 e  $\omega$ -3), fibras alimentares e seus efeitos metabólicos e fisiológicos sobre o organismo humano tem aumentado nas últimas décadas, entre eles encontra-se a linhaça, a qual se tem atribuído propriedades hipocolesterolêmicas (24,25).

Marques et al (2), constataram decréscimo no colesterol plasmático em todos os grupos que receberam linhaça (crua, assada ou óleo), justificando que essa redução está relacionada com a diminuição do colesterol livre e do esterificado, bem como com a relação  $\omega$ 6: $\omega$ 3 (10). No entanto outros constituintes da linhaça, como lignanas, fibras e proteínas, também podem desempenhar um papel importante na redução do colesterol sérico (26, 5). Sabe-se que o ALA aumenta a secreção de colesterol na bile, conduzindo à depleção do *pool* intra-hepático de colesterol, consequentemente aumentando a síntese e o *turnover* de colesterol (27).

Eufrásio et al. (28) testando o efeito de fibras solúveis (pectina e goma guar) encontraram que ambas foram eficientes em evitar o aumento do colesterol total e o LDL-c provocado pelo consumo de dieta hipercolesterolêmica, assim como Arjmandi et al. (29), que avaliaram 96 ratos,



durante 21 dias, a fim de determinar a influência do consumo das fibras celulose, pectina, *psyllium* e farelo de aveia, todas em concentração de 10%, sobre as frações lipídicas e hepáticas e, verificaram que a fibra solúvel (pectina) reduziu em 21,67% os valores de colesterol total sérico, quando comparada com o grupo controle (10% de celulose com colesterol).

Em estudo realizado por Anderson et al. (30) que investigaram o efeito de dez diferentes tipos de fibras sobre os níveis séricos e hepáticos de ratos alimentados com dietas contendo colesterol, durante três semanas, sendo a celulose a fibra controle. Os resultados demonstraram que os animais alimentados com fibras solúveis (*psyllium*, goma guar e pectina) tiveram significativa redução na concentração de colesterol total no soro e no fígado.

Segundo Fietz e Salgado (31), diversos mecanismos foram propostos para explicar a ação das fibras solúveis formadoras de géis viscosos sobre o metabolismo lipídico. A ação hipolipidemiante, inclui mecanismos que reduzem a absorção de colesterol, pelo fato de não sofrerem digestão pelas enzimas digestivas. As fibras passam íntegras pelo intestino onde se ligam ao colesterol e aos ácidos biliares aumentando a viscosidade do meio aquoso, com isso impedindo a absorção e o transporte de colesterol, eliminando-o nas fezes (32).

A suplementação da dieta hiperlipídica dos ratos com linhaça e farelo desengordurado por um período de 50 dias impediu a redução dos níveis de HDL-c. Resultados similares foram encontrados por Matias (9), que avaliou o efeito da fibra alimentar da linhaça e do amaranto em ratos e por Marques (2), nos quais a fração HDL-c não diferiu do grupo controle. Prasad et al. (22) avaliando coelhos hipercolesterolêmicos suplementados com lignanas (15mg/dia), observaram expressivo aumento do HDL-c. Enquanto Cintra et al.

(5) encontraram redução nos valores dessa lipoproteína, justificando que apesar de os ácidos graxos poliinsaturados apresentarem mecanismos de redução do colesterol total e conseqüente diminuição dos riscos de aterosclerose, os mesmos podem levar a uma redução da fração HDL-c, isso se deve, provavelmente, em função da inibição da síntese de apoA-1, uma vez que essa apolipoproteína é responsável pela ativação da enzima lecitina-colesterol acil transferase (LCAT), que esterifica o colesterol previamente retido em HDL circulantes.

A partir dos resultados encontrados no presente estudo para as frações LDL-c e VLDL-c, redução de 48,25% e 24,63% para o grupo HO 8% respectivamente, pressupõe-se que a redução dos mesmos ocorra em função do elevado conteúdo de  $\omega$ -3 presente neste grão. Altos níveis de ácidos graxos insaturados parecem exercer papel importante na melhoria do perfil lipídico, tanto em humanos quanto em animais, sendo apontado efeito mais substancial na redução das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), considerada fator de risco cardiovascular (33, 27).

Fernandes et al. (19) não encontraram diferença em relação ao colesterol total, porém observaram aumento médio de 52,42% nos níveis de HDL-c no grupo alimentado com linhaça marrom em relação ao grupo controle, indicando possivelmente que a suplementação levou à redução das lipoproteínas séricas de LDL-c e VLDL-c e, portanto, contribuiu ainda mais para a redução do risco de aterosclerose nesses animais.

Os valores médios observados para os triacilgliceróis (TAG) no presente estudo mostraram que os grupos alimentados com linhaça e óleo apresentaram redução significativa em relação ao controle, 19,7% e 24,63%,

respectivamente, o mesmo não foi observado nos grupos suplementados com farelo. No estudo realizado por Bhathena et al. (10) no qual foi avaliado o consumo de farinha de linhaça e proteína de soja em ratos obesos, constatou-se maior redução de TAG séricos nos animais alimentados com a linhaça em relação aos que receberam soja. Na investigação feita por Marques et al. (2), os valores de TAG dos grupos alimentados com linhaça crua e óleo de linhaça foram significativamente menores em relação ao grupo controle. Portanto pode-se inferir que o efeito da linhaça na redução dos TAG séricos deve-se ao ALA, tendo em vista que esse ácido graxo pode inibir a síntese hepática de TAG (34). Como o óleo contém basicamente lipídeos, é possível afirmar que o caráter hipotrigliceridêmico dessa oleaginosa está no conteúdo de ALA e, nesse caso, não parece ser influenciado pelo teor de fibra alimentar, lignana ou outro composto (2).

Além disso, Brown et al. (35) observaram no fígado de ratos capacidade diminuída de transportar TAG para fora do hepatócito, depois do consumo de dieta rica em óleo de peixe, associado a síntese e secreção diminuída de VLDL apolipoproteína B-48, sugerindo que ocorra acúmulo de TAG no fígado. Tal achado corrobora com o resultado obtido para o perfil lipídico dos animais estudados, no qual foi encontrado diminuição do colesterol total sérico e hepático com concomitante aumento do teor de lipídeos no fígado.

Gaiva et al (36) ao investigarem os efeitos de dietas ricas em ácidos graxos  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 no metabolismo hepático de ratos, durante 8 semanas, concluíram que o enriquecimento da dieta com ácidos graxos  $\omega$ -3 produz hipolipidemia, porém pode causar mudanças no metabolismo hepático com aumento da deposição lipídica, em função, entre outros fatores, da diminuição

da síntese da apolipoproteína B-48, responsável pelo transporte do colesterol do fígado para as células periféricas. Supõe-se que o aumento do teor de lipídeos tenha ocorrido em função do aumento no conteúdo de TAG hepáticos.

Quando avaliaram a ocorrência de esteatose hepática, Cintra et al (5) não encontraram diferença quanto ao teor de gordura no órgão do grupo linhaça em relação ao controle, porém observaram redução significativa do conteúdo de colesterol hepático, bem como do peso do órgão. Eufrásio et al. (28) constataram que ambas as fibras solúveis testadas (pectina e goma guar), quando ingeridas pelos animais, eram eficientes em evitar o aumento do colesterol total e lipídeos totais dos fígados dos ratos que consumiram dieta hipercolesterolêmica ( $p < 0,05$ ), sem, no entanto, causar redução no valor do peso do órgão. Melo et al. (23) observaram que os grupos suplementados com óleo e semente de linhaça apresentaram aumento dos valores do colesterol no fígado quando comparado aos demais grupos experimentais, uma vez que na presença de dieta hipercolesterolemia esses tratamentos reduziram as concentrações séricas de triacilgliceróis, sugeriu-se possível acúmulo hepático, corroborando com os dados de Brown et al. (35).

Os valores médios observados para o peso do fígado dos animais diferiram apenas para o grupo suplementado com 15% de farelo desengordurado, sendo essa redução equivalente a 15,67% do peso da massa hepática em relação ao grupo hiperlipídico. Cintra et al. (5) também observaram redução do peso do órgão em seu estudo para o grupo alimentado com linhaça. Essa redução pode ser atribuída ao elevado conteúdo de fibras do farelo, visto que outros estudos avaliando o efeito de fibras no tamanho do órgão também evidenciaram redução do peso do mesmo (30, 37).

A excreção de lipídeos pelas fezes foi significativamente maior para os grupos alimentados com linhaça e farelo desengordurado, sendo mais de 200% no grupo HL 15%, da mesma forma que no estudo de Marques et al. (2) no qual a quantidade de excreção de gordura fecal foi significativamente superior para os grupos alimentados com linhaça crua e assada em relação ao grupo óleo. Cintra et al. (5), comparando uma dieta que continha linhaça com dietas compostas de outras fontes lipídicas, também observaram alta excreção fecal de lipídeos nos ratos alimentados com o grão, em relação aos demais tratamentos. No presente estudo, esses mesmos grupos (HL e HF) também foram os maiores promotores de excreção de colesterol fecal, sendo a maior excreção evidenciada no grupo HF 15% (254,87%) em relação ao controle hiperlipídico, apesar de nenhum grupo ter apresentado alteração na excreção de ácidos biliares, resultado similar ao encontrado por Matias (9). Desta forma, esses resultados evidenciam o papel benéfico exercido pelas fibras, confirmando um dos mecanismos propostos que esclarece a capacidade das fibras solúveis em reduzir o colesterol plasmático, o qual sugere que as fibras solúveis aumentam a viscosidade do lúmen intestinal, inibindo sua reabsorção, sendo excretado nas fezes, uma vez que o colesterol é precursor na síntese de ácidos biliares, quando este retorna em menor quantidade para o fígado há mobilização do colesterol endógeno para esta síntese, e consequentemente é gerado um efeito hipocolesterolemiantes (38).

A glicemia de jejum não variou entre os diferentes tratamentos. Marques et al. (2011) encontraram redução na glicemia apenas no grupo alimentado com linhaça crua, inferindo essa redução ao efeito da fibra solúvel contida do grão

397 (mucilagem), uma vez que esse tipo de fibra causa retardo no esvaziamento  
398 gástrico, desta forma promovendo controle glicêmico (39).

399 Com base nos resultados obtidos e naqueles encontrados na literatura, é  
400 possível afirmar que os efeitos mais pronunciados em relação à melhora do  
401 perfil lipídico são provenientes da ingestão do óleo de linhaça, que é rico em  
402 ALA. Entretanto, apesar desse ácido graxo insaturado ser um constituinte de  
403 grande importância na linhaça, outras substâncias presentes nesse grão, tais  
404 como lignanas e fibras, possuem efeito pronunciado no metabolismo lipídico, o  
405 que pôde ser comprovado no presente estudo, nos animais alimentados com  
406 linhaça e farelo desengordurado, por meio da promoção de um aumento  
407 significativo na excreção fecal de lipídeos e colesterol, trazendo alterações  
408 benéficas ao organismo animal.

409 Dessa forma, sugere-se que mais estudos, com o intuito de investigar os  
410 componentes isolados desse grão devam ser realizados, a fim de se elucidar  
411 com maior clareza a ação de cada um deles no organismo.

## AGRADECIMENTOS

À empresa Indústria de Óleos Vegetais Pазze Ltda.

## REFERÊNCIAS

- 1.WHO (WHORLD HEALTH ORGANIZATION). 2008-2013 Action Plan for the Global Strategy for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. p.7, 2008.
- 2.Marques AC, Hautrive TP, Moura GB, Callegaro MG, Hecktheuer LHR. et al. Efeito da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) sob diferentes formas de preparo na resposta biológica em ratos. Rev. Nutr. 2011; 24(1): 131-41.
- 3.Lima FEL, Menezes TN, Tavares MP, Szafarc SC, Fisberg RM. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. Rev. Nutr. 2000; 13(2): 73-80.
4. Almario RU, Vonghavaravat V, Wong R, Karakas SEK. Effects of walnut consumption on plasma fatty acids and lipoproteins in combined hyperlipidemia. Am J Clin Nutr. 2001; 74(1):72-9.
5. Cintra DEC, Costa AGV, Penuzio MCG, Matta SLP, Silva MT, Costa NMB. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout or chicken skin. J Nutr. 2006 ; 22(2) :197-05.
6. Collins TFX, Sprando RL, Black TN, Olejnik N, Wiesenfeld PW, Babu US, Bryant M, Flynn TJ, Ruggles DI. Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. . Food Chem Toxicol. 2003; 41(6):819–34.
7. Chen HH, Xu SY, Wang, Z. Interaction between flaxseed gum and meat protein. J Food Eng. 2007; 80(4):1051-59.
8. Riediger ND, Azordegan N, Janz SH, Ma DWL, Suh M, Moghadasian MH. Designer oils' low in n-6:n-3 fatty acid ratio beneficially modifies cardiovascular risks in mice. Eur J Clin Nutr. 2009; 48: 307-14.
9. Matias, Andrea C. G. Avaliação de efeitos fisiológicos da fração fibra alimentar dos grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) e linhaça (*Linum usitatissimum* L.). 2007. 111p. Tese (Doutorado em Saúde Pública)- Faculdade de Nutrição, Universidade de São Paulo, São Paulo.
10. Bhatena SJ, Ali AA, Haudenschield C, Latham P, Ranich T, Mohamed AI, Hansen CT, Velasquez MT. Dietary flaxseed meal is more protective then soy concentrate against hypertriglyceride and steatosis of the liver in animal modelo f obesity. J. Am. Coll. Nutr. 2003; 22(2): 157-64.
11. Rosa DD, Sales RL, Moraes LFS, Lourenço FC, Sabarense CM, Peluzio MCG. Flaxseed, olive and fish oil influence plasmatic lipids, lymphocyte migration and morphometry of the intestinal of Wistar rats. Acta Cirurgica Brasileira (Impresso), 2010; 25:275-80.

12. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee and the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(11):1939-51.
13. Rosa COB, Costa NMB, Nunes RM. Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioca e vermelho na redução de colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. *Arch Latinoam Nutr.* 1998; 48(4):306-10.
14. Dongowski G, Huth M, Gebhardt E, Flamme W. Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. *J Nutr.* 2002; 132(12):3704-14.
15. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18:499-02.
16. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959; 37(8):911-17.
17. Van Der Meer R, Vries H, Glatz FC. T butanol extraction of feces: a rapid procedure for enzymic determination of fecal bile acids. In: Beyben AC, Geeleb MJH, Katan MB, Schoyten JA. Cholesterol metabolism in health and disease: studies in the Netherlands. Wageningen: Ponsen & Looijen; 1985. p 113-19.
18. Institute of Laboratory Animals Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council. Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório/ tradução Guillermo Rivera. Goiânia: AAALAC e COBEA, 2003. p162.
19. Fernandes CAM, Schmidt G, Neto-Oliveira ER, Bersani-Amado CA, Cuman RKN. Avaliação dos efeitos da suplementação com farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) marrom e dourada sobre o perfil lipídico e a evolução ponderal em ratos *Wistar*. *Rev. Bras. Pl. Med.* 2010; 12(2): 201-07.
20. Rocha KKHR. Efeitos do resveratrol, polifenol da uva, sobre metabolismo basal e hepático, estresse oxidativo e perfil lipídico em ratos submetidos à dieta rica em sacarose e sua associação ao consumo de etanol. 2010. 79p. Tese (Doutorado em Farmacologia)- Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu.
21. Junqueira PHT, Meneghini PV, Silva A, Vieira AF, Baracho NCV. Desenvolvimento e Caracterização de um Modelo Experimental de Obesidade por Injeção Subcutânea de Glutamato Monossódico em Ratos. *Rev Ciên Saúde.* 2011; 1(3):1-11.
22. Prasad K. Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of fl ax lignan complex isolated from fl ax seed. *Atherosclerosis.* 2005; 179(2): 269- 75.
23. Melo SS, Silveira BM, Stefanos FB, TOMIO TA, TISCHER CA. Efeito da goma arábica nas concentrações de colesterol hepático, sérico e fecal de ratos alimentados com semente de linhaça, óleo de linhaça e colesterol sintético. *Alim. Nutr.* 2008; 19(2):133-44.



24. Carvalho PO, Campos PRB, Noffs MD, Oliveira JG, Shimizu MT, Silva DM. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. *Quím. Nova*. 2003; 26(1):75-80.
25. Baxter YC. Fibras alimentares. *Rev. Nutr. Pauta*. 2004; 12(66):55.
26. Wiesenfeld PW, Babu US, Collins TFX, Sprando R, O'Donnell MW, Flynn TJ, Black T, Olejnik N. Flaxseed increased  $\alpha$ -linolenic and eicosapentaenoic acid and decreased arachidonic acid in serum and tissues of rat dams and offspring. *Food Chem Toxicol*. 2003; 41(6):841-55. doi: 10.1016/S0278-6915(03)0003 5-8.
27. Morise A, Serougne C, Grippo D, Blouquit MF, Lutton C, Hermier D. Effects of dietary  $\alpha$ -linolenic acid on cholesterol metabolism in male and female hamsters of the LPN strain. *J Nutr Biochem*. 2004; 15(1):51-61.
28. Eufrásio MR, Barcelos MFP, Sousa RV, Abreu WC, Lima MAC, Pereira MCA. Efeito de diferentes tipos de fibras sobre frações lipídicas do sangue e fígado de ratos Wistar. *Ciênc Agrotec Lavras*. 2009; 33(6):1608-14.
29. Arjmand BH, Khan DA, Juma S, Drum M L, Venkatesh S, Sohn E, Wei L, Derman R. Whole flaxseed consumption lowers serum ldl-cholesterol and lipoprotein(a) concentrations in postmenopausal women. *J Nutr Res*. 1998; 18(7):1203-14.
30. Anderson JW, Jones AE, Riddell-Mason S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J Nutr*. 1994; 124(1):78-83.
31. Fietz VR, Salgado JM. Efeito da pectina e da celulose nos níveis séricos de colesterol e triglicérides em ratos hiperlipidêmicos. *Ciênc Tecnol Alim*. 1999; 19(3):318- 21.
32. Mclean-Ross AH, Eastwood MA, Anderson JR, Anderson DMW. A study of the effects of dietary gum arabic in humans. *Am. J. Clin. Nutr*. 1983; 37(3):368-75.
33. Oomah BD. Flaxseed as a functional food source. *J Sci Food Agric*. 2001; 81:889-94.
34. Murase T, Aoki M, Tokimitsu I. Supplementation with  $\alpha$ -linolenic acid-rich diacylglycerol suppresses fatty liver formation accompanied by an upregulation of  $\beta$ -oxidation in Zucker fatty rats. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1733(2-3):224-31.
35. Brown AM.; Baker PW.; Gibbons GF. Changes in fatty acid metabolism in rat hepatocytes in response to dietary n-3 fatty acids are associated with changes in the intracellular metabolism and secretion of apoprotein B-48. *J. Lipid. Res*. 1997; 38(1): 469-81.

36. Gaíva MH, Couto RC, Oyama LM, Couto GEC, Silveira VLF, Ribeiro EB, Nascimento CMO. Diets rich in polynsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. *J Nutr.* 2003; 19(2): 144-49.
37. Gallaher CM, Munion JH, Wise J. Cholesterol reduction by glucomanana and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption asnd bile acid and fat excretion in rats. Minnesota: American Society for Nutritional Sciences, 2000. 2559p.
38. Wong JMW, Souza R. Kendall CWC, Eman A, Jenkins DJA. Colonic Health: Fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40:325-243.
39. Tarpila A, Wennberg T, Tarpila S. Flaxseed as a functional food. *Current Topics in Nutraceutical Research.* 2005; 3(3): 167-88.

**LEGENDA DA FIGURA**

**FIGURA 1** Efeito das dietas hiperlipídicas contendo linhaça triturada, farelo desengordurado e óleo de linhaça na glicemia de jejum de ratos *Wistar*. Resultados expressos em média e desvio padrão. ANOVA. (N=6)

**Tabela 1** Formulação das dietas experimentais.

Ingredientes (g)	Dietas (g)							
	N (P)	HL (C)	HL (L7,5%)	HL (L15%)	HL (F7,5%)	HL (F15%)	HL (O4%)	HL (O8%)
Sacarose	100	100	100	100	100	100	100	100
Amido de milho	465,472	232,472	217,592	202,802	210,162	184,812	232,472	232,472
Caseína	152,22	152,22	137,2	122,1	126,33	100,45	152,22	152,22
Amido dextrinizado	155	155	155	155	155	155	155	155
Óleo de soja	40	-	-	-	-	-	-	-
Fibra	50	50	31,58	13,16	23,49	-	50	50
Mix mineral	35	35	35	35	35	35	35	35
Mix vitamínico	10	10	10	10	10	10	10	10
L-cistina	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Tetra	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
butilhidroquinona								
Banha suína	-	250	223,32	196,63	249,71	249,43	210	170
Colesterol	-	10	10	10	10	10	10	10
Ácido cólico	-	1	1	1	1	1	1	1
Linhaça triturada*	-	-	75	150	-	-	-	-
Farelo	-	-	-	-	75	150	-	-
desengordurado**								
Óleo de linhaça***	-	-	-	-	-	-	40	80
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

**N:** Dieta Normal; - **P:** Grupo Padrão; **HL:** Dietas Hiperlipídica; - **C:** Grupo Controle; - **L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.

\*Proteína: 15,82g; Lipídeos: 35,58g; Fibra: 24,56g; Cinzas: 3,34g; Umidade: 7,47; Carboidratos: 13,2g (g/100g)

\*\* Proteína: 27,2g; Lipídeos: 0,38g; Fibra: 35,35g; Cinzas: 6,36g; Umidade: 7,93; Carboidratos: 22,78g (g/100g)

\* 55% de ácido graxo alfa-linolênico, analisado por cromatografia gasosa.

**Tabela 2** Ganho de peso (g), consumo total (g), Quociente de Eficiência Alimentar (QEA) e circunferência abdominal dos animais após 50 dias de administração das dietas experimentais.

Dietas	Ganho de peso* (g)	Consumo total** (g)	Consumo médio diário*** (g)	Quociente de eficiência alimentar****	Circunferência abdominal***** (cm)
Hiperlipídica	51,50±14,12 <sup>a</sup>	614,36±55,96 <sup>a</sup>	12,29±0,53 <sup>a</sup>	0,08±0,02 <sup>a</sup>	13,97±1,14 <sup>a</sup>
HL7,5%	54,34±17,4 <sup>a</sup>	631,27±68,04 <sup>a</sup>	12,63±1,36 <sup>a</sup>	0,08±0,02 <sup>a</sup>	14,2±0,89 <sup>a</sup>
HL 15%	48,99±14,71 <sup>a</sup>	632,8±58,31 <sup>a</sup>	12,66±1,17 <sup>a</sup>	0,08±0,02 <sup>a</sup>	14,08±0,65 <sup>a</sup>
HF 7,5%	57,59±21,08 <sup>a</sup>	631,19±31,27 <sup>a</sup>	12,62±0,62 <sup>a</sup>	0,09±0,03 <sup>a</sup>	14,6±1,29 <sup>a</sup>
HF 15%	46,65±12,03 <sup>a</sup>	623,55±32,23 <sup>a</sup>	12,47±0,65 <sup>a</sup>	0,07±0,02 <sup>a</sup>	14,33±1,42 <sup>a</sup>
HO 4%	43,25±14,97 <sup>a</sup>	616,45±29,53 <sup>a</sup>	12,33±0,59 <sup>a</sup>	0,07±0,02 <sup>a</sup>	14,03±0,77 <sup>a</sup>
HO 8%	48,29±19,97 <sup>a</sup>	614,25±33,52 <sup>a</sup>	12,28±0,67 <sup>a</sup>	0,08±0,03 <sup>a</sup>	14,38±0,67 <sup>a</sup>

Normolipídica: \*35,15±7,6; \*\*753,77±26,27; \*\*\*15,08±0,53; \*\*\*\* 0,05±0,01; \*\*\*\*\*12,95±1,65

**HL:** Dietas Hiperlipídica; - **L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.

**Tabela 3** Dosagens sorológicas (mg.dL<sup>-1</sup>) de colesterol total, c-HDL, c-LDL e c-VLDL e triacilgliceróis das ratas fêmeas *Wistar*/UFPel alimentadas durante 50 dias com as dietas experimentais.

Dietas	Colesterol Total* (mg.dL <sup>-1</sup> )	c-HDL** (mg.dL <sup>-1</sup> )	c-LDL*** (mg.dL <sup>-1</sup> )	c-VLDL**** (mg.dL <sup>-1</sup> )	TAG***** (mg.dL <sup>-1</sup> )
Hiperlipídica	104,36±0,97 <sup>a</sup>	11,33±0,61 <sup>a</sup>	86,13±1,14 <sup>a</sup>	6,9±0,31 <sup>a,b</sup>	34,52±1,56 <sup>a,b</sup>
HL7,5%	74,64±0,32 <sup>c</sup>	9,71±0,24 <sup>b</sup>	59,38±0,54 <sup>c</sup>	5,54±0,62 <sup>c,d</sup>	27,72±3,12 <sup>c,d</sup>
HL 15%	85,62±1,62 <sup>b</sup>	12,14±0,64 <sup>a</sup>	67,94±1,34 <sup>b</sup>	5,54±0,21 <sup>c,d</sup>	27,72±1,06 <sup>c,d</sup>
HF 7,5%	107,59±3,55 <sup>a</sup>	10,80±0,36 <sup>a,b</sup>	90,50±3,86 <sup>a</sup>	6,29±0,16 <sup>b,c</sup>	31,46±0,78 <sup>b,c</sup>
HF 15%	80,45±0,32 <sup>b</sup>	10,92±0,84 <sup>a,b</sup>	61,88±1,23 <sup>c</sup>	7,65±0,1 <sup>a</sup>	38,27±0,51 <sup>a</sup>
HO 4%	84,01±1,94 <sup>b</sup>	7,52±0,24 <sup>c</sup>	69,27±1,76 <sup>b</sup>	7,21±0,21 <sup>a</sup>	36,5±1,06 <sup>a</sup>
HO 8%	56,65±2,27 <sup>d</sup>	6,88±0,61 <sup>c</sup>	44,57±1,67 <sup>d</sup>	5,2±0,0 <sup>d</sup>	26,02±0,0 <sup>d</sup>

Normolipídica: \*71,73±6,46; \*\* 26,21±0,73; \*\*\* 36,08±5,47; \*\*\*\* 9,44±0,66; \*\*\*\*\* 47,19±3,32

**HL:** Dietas Hiperlipídica; - **L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.

**Tabela 4** Massa hepática (g), lipídeos (g/peso do fígado) e colesterol hepáticos (mg.dL<sup>-1</sup>) das ratas fêmeas Wistar/UFPel alimentadas durante 50 dias com as dietas experimentais.

Dietas	Massa hepática* (g)	Lipídeos hepáticos totais** g/peso de fígado	% Lipídeos hepáticos	Colesterol total hepático*** mg.dL <sup>-1</sup>
Hiperlipídica	16,46±1,58 <sup>a</sup>	2,27±0,09 <sup>c,d</sup>	13,79	164,35±18,95 <sup>a</sup>
HL7,5%	17,02±2,27 <sup>a</sup>	2,43±0,03 <sup>c</sup>	14,28	92,66±10,36 <sup>c</sup>
HL 15%	14,76±2,22 <sup>a</sup>	1,85±0,04 <sup>e</sup>	12,53	87,4±3,94 <sup>c</sup>
HF 7,5%	16,03±0,5 <sup>a</sup>	2,69±0,09 <sup>b</sup>	16,78	47,28±0,58 <sup>d</sup>
HF 15%	13,88±1,52 <sup>b</sup>	2,13±0,08 <sup>d</sup>	15,35	39,69±2,63 <sup>d</sup>
HO 4%	16,03±2,98 <sup>a</sup>	3,15±0,1 <sup>a</sup>	19,65	128,26±3,36 <sup>b</sup>
HO 8%	15,96±1,21 <sup>a</sup>	3,11±0,07 <sup>a</sup>	19,49	133,66±1,75 <sup>b</sup>

Normolipídica: \*7,51±0,04; \*\* 0,12±0; \*\*\*15,9±0,44

**HL:** Dietas Hiperlipídica; - **C:** Grupo Controle; - **L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.

**Tabela 5** Lipídeos totais, colesterol total e ácidos biliares, em base seca, excretados nas fezes de ratas fêmeas Wistar/UFPel por 10 dias.

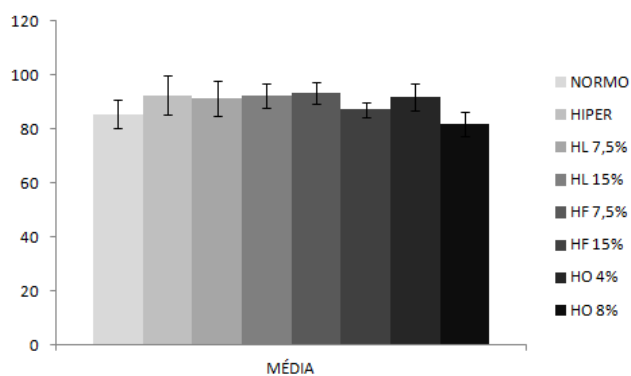
Dietas	Lipídeos nas fezes* mg/10 dias	Colesterol nas fezes** mg/10dias	Ácidos biliares*** µmoles/mL/g/ 10 dias
Hiperlipídica	732,64±17,17 <sup>e</sup>	478±19,29 <sup>d</sup>	43,41±6,81 <sup>a,b</sup>
HL7,5%	1838,95±42,27 <sup>b</sup>	536,89±23,05 <sup>d</sup>	32,89±3,89 <sup>b</sup>
HL 15%	2280,33±110,14 <sup>a</sup>	444,39±59,21 <sup>d</sup>	48,05±2,72 <sup>a</sup>
HF 7,5%	884,94±10,97 <sup>d</sup>	1479,34±50,9 <sup>b</sup>	40,82±0,08 <sup>a,b</sup>
HF 15%	1129,46±1,93 <sup>c</sup>	1696,28±142,2 <sup>a</sup>	47,92±2,81 <sup>a</sup>
HO 4%	710,08±2,38 <sup>e</sup>	502,52±27,52 <sup>d</sup>	49,32±0,38 <sup>a</sup>
HO 8%	752,47±34,79 <sup>e</sup>	735,93±18,81 <sup>c</sup>	49,21±6,25 <sup>a</sup>

Normolipídica: \* 170,68±8,3; \*\*0; \*\*\*30,56±4,33

**HL:** Dietas Hiperlipídica; - **C:** Grupo Controle; - **L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.



FIGURA



**Figura 1** Efeito das dietas hiperlipídicas contendo linhaça triturada, farelo desengordurado e óleo de linhaça na glicemia de jejum de ratos Wistar. Resultados expressos em média e desvio padrão. ANOVA. (N=6)

## Artigo 2

**Efeitos da ingestão de óleo, farelo desengordurado e linhaça (*Linum usitatissimum*) em parâmetros fermentativos de ratos *Wistar***

**Parâmetros fermentativos da linhaça**

**Parâmetros fermentativos da linhaça**

Carolina Galarza Vargas<sup>1\*</sup>, Lúcia Rota Borges<sup>2</sup>, Giovana Duzzo Gamaro<sup>3</sup>, Elizabete Helbig<sup>4</sup>

<sup>1</sup> - Graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Pelotas. Mestranda do Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas. Endereço: Rua Gomes Carneiro, 01. Pelotas, RS - Brasil

<sup>2</sup> - Mestrado em Saúde e Comportamento pela Universidade Católica de Pelotas. Professora da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas. Endereço: Campus Universitário, s/nº. Pelotas, RS – Brasil

<sup>3</sup> - Doutorado em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professora da Faculdade de Bioquímica da Universidade Federal de Pelotas. Endereço: Campus Universitário, s/nº. Pelotas, RS – Brasil

<sup>4</sup> - Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas. Professora da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas. Endereço: Rua Gomes Carneiro, 01. Pelotas, RS - Brasil

**\* Endereço para correspondência:**

Rua General Sampaio, 258, apto 101. CEP: 95097-000. Fone: (53)32267638. Caxias do Sul, RS – Brasil.

E-mail: [carolgalarza15@hotmail.com](mailto:carolgalarza15@hotmail.com)

O manuscrito encontra-se nas normas da Revista de Nutrição (disponível em <http://www.scielo.br/revistas/rn/pinstruc.htm> revista escolhida pelos autores para submissão, após apreciação da banca avaliadora).

## **Efeitos da ingestão de óleo, farelo desengordurado e linhaça (*Linum usitatissimum*) em parâmetros fermentativos de ratos *Wistar***

### **RESUMO**

#### **Objetivo**

Investigar o efeito do óleo, do farelo desengordurado e da linhaça triturada, em duas concentrações, sobre os parâmetros fermentativos em ratos submetidos a dietas hipercolesterolêmicas.

#### **Métodos**

Fêmeas adultas (n=48) foram divididas em 8 grupos de dieta: padrão (AIN-93M); controle hiperlipídica, com modificação no teor de lipídeos de 4% para 25% e adição de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%), dieta hiperlipídica acrescida de semente de linhaça triturada nas concentrações 7,5% e 15%, de farelo desengordurado nas concentrações 7,5% e 15% e de óleo da semente de linhaça nas concentrações 4% e 8%. Para avaliar o grau de fermentação foram investigados conteúdo cecal, excreção de fezes e produção de ácidos graxos de cadeia curta.

#### **Resultados**

Comparado ao grupo controle, houve aumento do peso das fezes úmidas e dessecadas, porém não foi observado, para nenhum grupo avaliado, diferença quanto ao peso e pH do ceco, bem como não foram identificados AGCC no conteúdo cecal. No entanto, houve aumento neste conteúdo para os grupos suplementados com farelo de linhaça e linhaça triturada ( $p < 0,05$ ). Os maiores valores de fibra alimentar excretados nas fezes foram evidenciados nos grupos suplementados com óleo.

#### **Conclusão**

Os resultados encontrados demonstram que em dietas hiperlipídicas e hipercolesterolêmicas o processo de fermentação intestinal da fibra, quer seja proveniente da linhaça triturada, ou quando na forma de farelo desengordurado apresenta-se limitado. Da mesma maneira que a utilização do óleo de linhaça quando avaliado de forma isolada. Sugere-se que a presença de ácidos graxos livres em uma dieta hiperlipídica possa exercer algum efeito tóxico sobre as bactérias intestinais, reduzindo sua população e interferindo na atuação destes microorganismos e, desta forma, impedindo que eles produzam seus metabólitos.

**Termos de indexação:** fermentação digestiva; ácidos graxos de cadeia curta; fibra dietética; ceco, ratos.

## **ABSTRACT**

### **Objective**

The present study investigated the effect of oil, defatted bran and ground flaxseed, at two concentrations on fermentation parameters in rats submitted to hypercholesterolemic diets.

### **Methods**

Adult females were divided into 8 groups of diet: standard (AIN-93M); control hyperlipidic with a change in the lipid content from 4% to 25% and addition of cholesterol (1%) and cholic acid (0.1%), hyperlipidic diet plus ground flaxseed at concentrations 7,5% and 15%, of defatted meal at concentration 7,5% and 15 and the linseed oil at concentrations 4% and 8%. To assess the degree of fermentation were investigated digest cecal, fecal excretion and metabolism of short chain fatty acids.

### **Results**

Compared with the control group, there was an increase in the weight of wet feces and dried, but was not observed, for any group evaluated, difference in weight and cecal pH, and SCFA were not identified. However, there was an increase in cecal contents for the groups supplemented with bran and flaxseed ( $p < 0.05$ ). The highest values of FA excreted in feces were observed in groups supplemented with oil.

### **Conclusion**

The results found no evidence of flaxseed as a promising source of fiber in relation to intestinal fermentation process in hyperlipidemic and hypercholesterolemic diets. It is suggested that the presence of free fatty acids in a high fat diet can exert a toxic effect on the intestinal bacteria reducing the population and interferes in the action of microorganisms and thereby preventing them from producing its metabolites.

**Indexing terms:** digestive fermentation, short chain fatty acids, dietary fiber, cecum, rats.

## INTRODUÇÃO

Até a primeira metade do século XX pouca ou ocasional importância foi direcionada às fibras alimentares (FA). Originariamente, a fibra era descrita como um componente da parede celular das plantas, que passava inalterado pelo intestino delgado e promovia, apenas, o aumento do bolo fecal. O interesse científico associado à FA foi efetivado apenas em meados dos anos 60 por meio de estudos epidemiológicos<sup>1</sup>. Desde então, uma gama de trabalhos vem relacionando o consumo de FA à redução na incidência de doenças crônicas não transmissíveis<sup>2</sup>.

Atualmente, são reconhecidos diversos efeitos fisiológicos atribuídos às fibras. Dessa forma, o papel das FA em saúde e nutrição tem estimulado muitos estudos e ganhado, no decorrer do tempo, grande atenção pública. Nesse contexto, a associação entre o consumo alimentar e os benefícios terapêuticos em certas doenças crônicas tem recebido uma atenção renovada e o interesse dos consumidores no papel dos chamados alimentos funcionais tem crescido exponencialmente<sup>3</sup>.

Assim, não raro, pesquisas apontam que maior ou menor ingestão de certos alimentos pode prevenir ou tratar doenças. Esta realidade tem incentivado a indústria alimentícia a investir em produtos saudáveis e nos alimentos com propriedades funcionais. Entre os alimentos com estas características, de acordo com Marques<sup>4</sup>, encontra-se a linhaça (*Linum usitatissimum*).

Esse grão oleaginoso, de cor marrom ou amarelo dourado é rico em ácidos graxos poliinsaturados  $\alpha$ -linolênico (ALA) e, em menor quantidade, linoléico (AL), além de conter teores significativos de proteína vegetal, lignanas, fibra alimentar solúvel e insolúvel, ácidos fenólicos, flavonóides, vitaminas e minerais. Essas

substâncias conferem propriedades funcionais à linhaça, em função dos benefícios que proporcionam à saúde<sup>5,6</sup>.

Os teores de fibra alimentar (FA) presentes na linhaça são bastante significativos, pois ela contém em média 28% de fibra alimentar total, das quais 75% são insolúveis e 25% solúveis, sendo as principais frações de fibra compostas por celulose, mucilagens e lignina<sup>7</sup>.

As fibras são componentes da dieta que não sofrem digestão no trato superior do sistema digestório, ao atingirem o ceco ou o cólon, dependendo da espécie, podem ser utilizadas como substrato para a fermentação pela microflora bacteriana. A fermentação cecal ou colônica caracteriza-se pela utilização anaeróbia destes substratos, com a conseqüente formação de diversos produtos, que promoverão diferentes efeitos fisiológicos locais e sistêmicos<sup>8</sup>. Destacam-se como os principais alguns gases (dióxido de carbono, metano e hidrogênio), água, ácidos graxos de cadeia curta, sendo os mais importantes o ácido acético, o propiônico e o butírico<sup>9</sup>. Esse processo contribui também para o aumento da massa bacteriana e, conseqüentemente, para o aumento do bolo fecal.

Os ácidos graxos de cadeia curta estão relacionados com a manutenção do pH intestinal, com o trofismo das mucosas cecal e colônica e a proteção da microbiota normal evitando, dessa forma, o crescimento de bactérias patogênicas<sup>10</sup>.

Evidências da literatura mostram que a mucosa do intestino delgado absorve ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), dentre esses, o butirato é o melhor combustível para colonócitos contribuindo com 70 % de energia para as células da mucosa do cólon, o que possibilita uma mucosa mais resistente a patógenos e carcinógenos<sup>11</sup>.

O ácido acético, produzido na fermentação colônica, após ser absorvido, é transportado pela veia porta até o fígado, sendo utilizado periféricamente como fonte de energia e como estrutura para síntese de ácidos graxos de cadeia média e longa. Na ausência de carboidrato pode ser utilizado como substrato para a gliconeogênese<sup>9</sup>.

Já o ácido propiônico é um importante precursor de rotas biossintéticas como a gliconeogênese. Além disso, o ácido propiônico atua inibindo a enzima hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase) importante enzima relacionada à síntese de colesterol nos hepatócitos<sup>12,13</sup>.

Tendo em vista que as fibras constituem um dos componentes que atribui propriedades funcionais à linhaça, este estudo objetivou investigar o efeito do óleo, do farelo desengordurado e da linhaça triturada, em duas concentrações, sobre os parâmetros fermentativos em ratos submetidos a dietas hiperlipídicas hipercolesterolêmicas

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### ***Ensaio biológico***

Foi realizado ensaio biológico com ratos adultos, utilizando-se 48 fêmeas cepa *Wistar/UFPel*, divididas e distribuídas aleatoriamente em 8 grupos de 6 animais cada grupo, com ração e água fornecidas *ad libitum*, mantidas em gaiolas metabólicas individuais, com temperatura e umidade relativa de  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  e 50 - 60%, respectivamente, com ciclo claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram alimentados com dieta padrão (P) elaborada conforme recomendação do *American Institute of Nutrition*, (AIN-93M) segundo Reeves et al.<sup>14</sup> e dieta controle hiperlipídica (H), com modificação no teor de lipídeos de 4% para 25% e adição de colesterol (1%) e ácido cólico (0,1%) (ROSA et al.<sup>15</sup>). Os



tratamentos eram compostos da dieta hiperlipídica acrescida de semente de linhaça triturada nas concentrações 7,5% e 15% (HL 7,5% e HL 15%), de farelo desengordurado nas concentrações 7,5% e 15 % (HF 7,5% e HF 15%) e de óleo da semente de linhaça nas concentrações 4% e 8% (concentração recomendada pela AIN-93 e dobro), (HO 4% e HO 8%) conforme apresentada na Tabela 1.

O estudo realizado no Laboratório de Ensaios Biológicos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), em 2010, teve duração de 54 dias, sendo 4 dias de adaptação e 50 dias de tratamento.

Durante o ensaio biológico, as fezes foram recolhidas por um período de 10 dias consecutivos, pesadas e armazenadas sob congelamento em sacos de polietileno para que no final do experimento fosse quantificado o teor de fibra excretada.

Ao final do experimento, após jejum de 12 horas, os modelos biológicos foram submetidos à eutanásia por decapitação, a seguir foram laparotomizados para a coleta do ceco. Os cecos completos (com conteúdo) foram delimitados e pesados. Na sequência, o pH do conteúdo cecal foi aferido por meio de uma pequena incisão na parede do órgão, onde foi introduzido eletrodo portátil de calibre de 5mm de diâmetro. O conteúdo do ceco foi então transferido para tubos tipo Falcon e imediatamente congelado a -80°C para posterior quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta. Os cecos foram lavados com soro fisiológico, secos cuidadosamente com gaze e pesados.

#### ***Avaliação físico-química das dietas experimentais***

A análise centesimal determinou os teores de proteína bruta (PB) através da determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl ( $PB = N \times 6,25$ ), umidade (105°C/15h) e cinzas (mufla a 550°C/6h), segundo os procedimentos descritos no manual da Association of Official Analytical Chemistry 1995<sup>16</sup> (AOCS). Lipídios totais

foram determinados pelo método descrito por Bligh & Dyer<sup>17</sup> (1959), que utiliza clorofórmio e metanol como solventes para extração da gordura. O conteúdo de carboidratos foi obtido pela diferença entre 100% e a soma dos demais macronutrientes.

### ***Fibra alimentar***

Os teores de fibra total (FT) foram determinados conforme o método enzimico-gravimétrico nº991.43<sup>19</sup>. As amostras foram primeiramente incubadas por 30 minutos a 100°C com  $\alpha$ -amilase e então resfriadas. Adicionou-se protease seguida de incubação a 60°C por 30 minutos para hidrolisar a proteína. O pH foi ajustado para a faixa de 4,0 – 4,7 e realizou-se nova incubação com amiloglicosidase por 30 minutos, mantendo a mesma temperatura, para hidrolisar as dextrinas do amido. Para a determinação da FT, a parte solúvel foi precipitada com etanol a 60°C por 60 minutos. Após a filtragem, os resíduos foram lavados sucessivamente com etanol e acetona, secos (105°C/12h em estufa de ventilação) e pesados. Procedeu-se as correções para matéria mineral e proteína com posterior cálculo da quantidade total de fibras. As enzimas utilizadas nos métodos enzimáticos foram  $\alpha$ -amilase Termamyl, protease marca Granotec e amiloglicosidase da marca Prozyn.

### ***Fibra fecal***

A determinação de fibra total nas fezes foi realizada conforme descrito anteriormente, seguindo método proposto por AOAC, 1995<sup>16</sup>.

### ***Ácidos graxos de cadeia curta***

O perfil de ácidos graxos de cadeia curta foi determinado por cromatografia gasosa, a partir do extrato etéreo das amostras, na forma de ésteres de ácidos graxos, previamente preparados através da técnica de derivatização descrita pela AOAC<sup>16</sup> (1995). Primeiramente foi feito um pool do material cecal para cada grupo

experimental e, em seguida, extraído o óleo seguindo a metodologia proposta por Bligh & Dyer<sup>17</sup> (1959). Posteriormente procedeu-se a derivatização da amostra. Nesse procedimento 2 gotas do óleo foram dissolvidas em solução de clorofórmio e metanol (3:1), em seguida foi adicionado à amostra 12 mL de HCl 0,5N em metanol e logo colocado sob aquecimento em estufa a 65°C até que a solução se tornasse transparente. Após resfriamento adicionou-se isooctano e água destilada e tomou-se o sobrenadante.

Utilizou-se como padrão o Methyl nonadecanoate, que consiste de uma mistura de ésteres metílicos contendo os ácidos acético (2C), propiônico (3C) e butírico (4C) adquiridos da Sigma-Aldrich. Os AGCC foram identificados pela comparação com os tempos de retenção dos padrões e os resultados expressos em porcentagem relativa. As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso-CG (Perkin Elmer Clarus 500), provido com detector FID, com coluna capilar (Carbowax 20M) de dimensão 30m x 0,25mm, revestida por filme PEG (polietileno Glicol) de 0,25µm, injetor automático com capacidade de 5µL. Os dados foram plotados e processados com auxílio do software Clarus 500.

O estudo foi desenvolvido de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação com Animais, com aprovação do Comitê de Ética da UFPel. Foram tomadas todas as medidas necessárias para o bem-estar dos animais, conforme recomendação do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), descritas no Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório (NRC, 2003)<sup>18</sup>.

### ***Análise estatística***

As variáveis foram apresentadas como médias  $\pm$  desvios padrão. Foi utilizada a análise de variância ANOVA, seguido do teste estatístico de Tukey, considerando

como nível de significância estatística, o limite de 5%. Utilizou-se o programa Statistica versão 7.0.

## RESULTADOS

Na Tabela 2, são apresentados dados da composição físico-química das dietas experimentais elaboradas conforme parâmetros previamente estabelecidos. Todas as dietas estavam equilibradas em relação aos nutrientes, vitaminas e minerais. O teor total de fibra variou de 4,55 a 6,27 g/100g.

O peso das fezes úmidas e dessecadas está evidenciado na Tabela 3. Observa-se que houve aumento significativo, ( $p < 0,05$ ), no peso das excretas dos grupos HL 15% (16,66%), HF 7,5% (8,09%) e HF 15% (30,08%). Para as fezes secas notou-se aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em excretas dos grupos suplementados com linhaça triturada e farelo desengordurado, nas maiores concentrações, sendo esse aumento de 22,32% e 14,62% em relação ao grupo hiperlipídico.

O aumento verificado no peso do ceco dos grupos suplementados com 15% de linhaça triturada e de farelo desengordurado, 38,18% e 40,0% respectivamente, não diferiu significativamente do grupo controle (hiperlipídico). Da mesma forma, não houve queda no pH do conteúdo do ceco para os tratamentos avaliados, assim como não foram identificados os ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico). Já o aumento observado no conteúdo cecal, de 35,57% e 56,19%, respectivamente para os grupos suplementados com linhaça triturada e farelo desengordurado, ambos na concentração de 15% na dieta foi significativo ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo hiperlipídico (Tabela 4).

Na Tabela 5 são apresentados os dados para o consumo de FA e quantificação de fibras nas fezes durante 10 dias de experimento. Apesar das dietas terem sido formuladas prevendo um valor fixo para o teor de fibra total, em torno de 5%, os

animais do grupo HL 7,5% consumiram quantidade de FA significativamente superior aos demais grupos ( $p < 0,05$ ), sendo 25,08% o aumento em relação ao grupo hiperlipídico, já os animais do grupo HF 7,5% apresentaram o menor consumo de fibra, sendo esse 20,36% inferior ao grupo hiperlipídico. Em relação ao teor de fibras excretados nas fezes os maiores valores foram observados nos grupos hiperlipídico, HO 4% e HO 8%, entre os quais não houve diferença significativa. Todos os tratamentos suplementados com linhaça e farelo desengordurado tiveram redução no teor de fibras excretado, sendo que o grupo HF 15% foi o que apresentou menor valor, representando 75% o teor de redução de excreção em relação ao grupo controle.

## **DISCUSSÃO**

A flora intestinal tem capacidade de adaptação ao tipo de substrato presente no meio, uma vez que esse determinará a formação das enzimas bacterianas adequadas para sua digestão. Estudos experimentais, realizados com seres humanos e animais, sugerem que os carboidratos sofrem diferente degradação dependendo da sua estrutura, quantidade na dieta e natureza das enzimas<sup>9</sup>.

A excreção fecal úmida e dessecada, no presente estudo, apresentou aumento significativo para os animais alimentados com linhaça triturada e farelo desengordurado. Matias<sup>8</sup>, avaliando os efeitos fisiológicos da fibra da linhaça e do amaranto em ratos, evidenciou aumento do bolo fecal das fezes úmidas, justificando maior capacidade de retenção de água no cólon, promovida pelas fibras da linhaça, resultando em maior peso fecal, como sendo a provável explicação. Entretanto, diferentemente do presente estudo, não encontrou diferença quanto ao peso das fezes em matéria seca. Enquanto Adam et al.<sup>20</sup> investigando o estímulo cecal promovido por dietas contendo farelo de trigo e tritcale encontraram aumento

significativo na excreção de fezes secas. Uma vez que as bactérias representam em torno de 50% do peso das fezes, é possível supor que a elevação do peso das fezes secas tenha sido produto da fermentação das fibras que gerou um aumento da flora bacteriana<sup>20,8</sup>. Freitas et al.<sup>21</sup> avaliando o efeito da fibra do polissacarídeo de soja no peso e umidade das fezes de ratos, verificaram maior teor de umidade fecal determinada pelo polissacarídeo, em relação ao grupo controle isento de fibras, porém menor peso nas fezes secas em relação ao grupo celulose.

Com relação ao aumento do peso das fezes úmidas cabe ressaltar que muitos estudos que objetivam investigar parâmetros semelhantes, avaliando FA de alimentos, utilizam para os grupos controle dietas isentas de fibras<sup>20,21,22,23,24,25</sup>. Sendo o grupo controle isento de celulose, o efeito no aumento das fezes, em função da elevação da capacidade de retenção de água, resultará num valor muito mais expressivo nas dietas dos grupos testes.

Diferentemente do encontrado nesta investigação, na qual o peso do ceco e o pH do conteúdo cecal dos tratamentos contendo linhaça triturada e seus produtos não diferiram do grupo controle, nem foi encontrada formação de AGCC no conteúdo cecal. No estudo promovido por Adam et al.<sup>20</sup> as dietas normolipídicas (5% de gordura), contendo fibras de trigo com diferentes viscosidades e farinha de tritcale, promoveram aumento do peso do conteúdo cecal, da parede do ceco e ainda formação de AGCC. Uma provável explicação para os resultados obtidos no presente trabalho sugere que a presença de ácidos graxos livres em uma dieta hiperlipídica possa exercer algum efeito tóxico sobre as bactérias intestinais, reduzindo sua população e interferindo na atuação destes microorganismos e, desta forma, impedindo que eles produzam seus metabólitos<sup>26</sup>.

Matias<sup>8</sup> também encontrou que a linhaça, em dietas contendo, em média, 6,5 % de extrato etéreo, exerceu aumento na parede do ceco, atribuindo esse resultado ao aumento na produção do ácido butírico, uma vez que esse AGCC é o principal substrato utilizado no metabolismo energético das células colônicas, o que, por sua vez, promove a proliferação dos colonócitos<sup>9</sup>. Nesse mesmo estudo também foi observado aumento nos níveis dos ácidos acético e propiônico, o que justificou a queda observada no pH. A queda no pH do conteúdo cecal, além de ser benéfica em função de promover crescimento seletivo de bactérias, indica que houve fermentação cecal. Da mesma forma, Adam et al.<sup>22</sup> ao investigarem diferentes frações de trigo na fermentação cecal de ratos, em dietas com 5% de lipídeos, encontraram que houve correlação entre o percentual de fibra solúvel da dieta e o aumento no teor de formação de AGCC, bem como no aumento da parede do ceco, sendo estes acompanhados de acidificação do conteúdo cecal.

No trabalho de Campbell et al.<sup>27</sup> foi estudado o efeito de oligossacarídeos indigeríveis, em dietas normolipídicas (10% de gordura), frente à parâmetros fermentativos em 55 ratos, os resultados mostraram que o consumo de 6% de oligossacarídeos na dieta gera aumento na produção dos AGCC, diminuição do pH além de aumento no conteúdo e na parede do ceco, enquanto o peso do cólon e do seu conteúdo não sofreram ação dos tratamentos. Esses autores explicam que esse resultado possivelmente se deva ao fato de que em ratos o processo de fermentação ocorre no ceco, e se estudado o processo fermentativo em seres humanos, será observado aumento do cólon e não do ceco, sendo que nos seres humanos esse processo é feito no cólon.

Bergreen et al.<sup>28</sup> examinaram o conteúdo de AGCC no ceco, pH e digestibilidade da matéria seca promovida por 11 fontes distintas de carboidratos indigeríveis,

sendo uma delas a fibra da linhaça, e obtiveram como resultado aumento da formação de AGCC nos animais alimentados com linhaça, sendo o ácido propiônico formado em maior quantidade e o ácido butírico em menor. No presente estudo houve aumento significativo do conteúdo cecal dos grupos suplementados com linhaça triturada e farelo desengordurado, na concentração de 15%, assim como houve diferença no teor de fibras excretadas nas fezes, havendo significativa redução na quantidade excretada em relação à ingerida para todos os grupos alimentados com linhaça e farelo desengordurado. Esses dados sugerem que houve fermentação das fibras, uma vez que o aumento do conteúdo cecal poderia ser explicado por aumento da massa bacteriana e a quantidade inferior de fibra excretada, entretanto todos os parâmetros avaliados não confirmam essa hipótese. Os trabalhos que estudaram o efeito das fibras na fermentação e encontraram aumento do peso do material cecal, justificaram esse achado em função da alta fermentação observada que levou ao aumento da massa bacteriana<sup>27,29</sup>. Matias<sup>8</sup> também evidenciou menor excreção de fibra ( $6,54\text{g}\pm 0,56$ ) do que consumo ( $7,57\text{g}\pm 0,90$ ) para o grupo alimentado com linhaça, a partir desses resultados, avaliou o grau de fermentação em seu estudo por meio da diferença percentual entre o total de fibras ingeridas e excretadas nas fezes e encontrou 13,6% para o grupo alimentado com linhaça.

## CONCLUSÃO

No presente estudo, a fibra de linhaça não sofreu fermentação pela flora intestinal dos animais. Esse grão não se mostrou capaz de promover trofismo na parede do ceco, reduzir o pH do conteúdo cecal ou mesmo formar AGCC em ratos submetidos à dietas hiperlipídicas hipercolesterolêmicas.



O aumento ocorrido no peso das fezes úmidas evidencia a capacidade de retenção de água na fibra, parâmetro que está relacionado com a melhora da velocidade do trânsito intestinal e efeito laxativo.

Os resultados encontrados demonstram que em dietas hiperlipídicas e hipercolesterolêmicas o processo de fermentação intestinal da fibra, quer seja proveniente da linhaça triturada, ou quando na forma de farelo desengordurado apresenta-se limitado. Da mesma maneira que a utilização do óleo de linhaça quando avaliado de forma isolada. No entanto, os estudos relatados, avaliando o efeito de fibras solúveis, demonstraram benefícios quanto ao processo fermentativo, quando avaliado seu consumo em dietas normolipídicas. Portanto sugere-se que mais estudos sejam promovidos para elucidar os possíveis efeitos do elevado consumo de lipídeos sobre as funções do trato gastrointestinal e suas interações no processo fermentativo e na colonização intestinal.

## **AGRADECIMENTOS**

À Pazze Ltda pela doação do grão, farelo desengordurado e do óleo. À Prozyn BioSolutions e Granotec pela doação das enzimas amiloglicosidase e protease. À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado e a FAPERGS ARD processo 10/0489-0 pelo apoio financeiro.

## **REFERÊNCIAS**

1. Burkitt D, Spiller GA. Dietary fiber: from early Hunter-gatherers to the 1990s. In Spiller, G. A. CRS Handbook of dietary fiber in human nutrition. 2ed. Boca Raton: CRC Press; 1993. p3-6.
2. Roberfroid MB. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. J. Nutr. 1999; 129(7): 1398-01.
3. Hasler CM. Functional foods: Benefits, concerns and challenges – A position paper from the American Council on Science and Health. J Nutr. 2002; 132 (12): 3772-81.

4. Marques AC, Hautrive TP, Moura GB, Callegaro MG, Hecktheuer LHR. Efeito da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) sob diferentes formas de preparo na resposta biológica em ratos. *Rev. Nutr.* 2011; 24(1): 131-41.
5. Chen HH, Xu SY, Wang Z. Interaction between flaxseed gum and meat protein. *J Food Eng.* 2007; 80(4): 1051-59. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.08.017.
6. Collins TFX, Sprando RL, Black TN, Olejnik N, Wiesenfeld PW, Babu US, Bryant M, Flynn TJ, Ruggles DI. Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. *Food Chem Toxicol.* 2003; 41(6):819-34,.
7. Morris DH. Essential nutrients and other functional compounds in flaxseed. *Nutr Today*, 2001; 33(3):159-65.
8. Matias ACG. Avaliação de efeitos fisiológicos da fração fibra alimentar dos grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) e linhaça (*Linum usitatissimum* L.) [doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.
9. Gõni I, Martin-Carrón N, Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. In Lajolo FM, Saura-Calixto F, Penna E W, Menezes E W. *Fibra dietética em iberoamérica: tecnologia e salud: obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación em alimentos.* São Paulo: Livraria Varela; 2001. v.1.
10. Greca FH, Simões, MLPB, Martins VDM, Araújo FH, Milano JB. Os ácidos graxos de cadeia curta na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2003; 30 (4): 268-74.
11. Cook SI, Sellin JH. Review article: short-chain fatty acids in health and disease. *Aliment Pharmacol Therapeut.* 1998; 12 (6): 499-07.
12. Todesco T, Rao AV, Bosello O, Jenkins DJA. Propionate lowers blood glucose alters lipid metabolism in health subjects. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54:860-65.
13. FAO/WHO Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. Carbohydrates in human nutrition. Report of a join FAO/WHO expert consultation. 66. Rome, 1998.
14. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(11):1939-51.
15. Rosa COB, Costa NMB, Numes RM. Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução de colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. *Arch Latinoam Nutr.* 1998; 48 (4): 306-10.
16. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis.* 16th ed. Washington, DC; 1995
17. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959; 37(8):911-17.

18. Institute of Laboratory Animals Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council. Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório/ tradução Guillermo Rivera. Goiânia: AAALAC e COBEA, 2003. pp162.
19. AOCS. American Oil Chemists' Society. Official and tentative methods of the Americans Olis Chemist's Society, Champaign, IL., 1992.
20. Adam A, Levrat-Verny MA, Lopez HW, Leuillet M, Demigné C, Rémésy C. Whole Wheat and Triticale Flours with Differing Viscosities Stimulate Cecal Fermentations and Lower Plasma and Hepatic Lipids in Rats, *J. Nutr.* 2001; 131(6): 1770–76. doi: 0022-3166/01
21. Freitas KC, Motta MEFA, Amâncio MS, Neto UF, Moaris MB. Efeito da fibra do polissacarídeo de soja no peso e na umidade das fezes de ratos em fase de crescimento. *J Pediatr.* 2004; 80(3):183-88.
22. Adam A, Lopez HW, Tressol JC, Leuillet M, Demigne C, Remesy C. Impact of Whole Wheat Flour and Its Milling Fractions on the Cecal Fermentations and the Plasma and Liver Lipids in Rats. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50(22): 6557-6562. doi: 10.1021/jf020418b
23. Dongowski G, Huth M, Gebhardt E, Flamme W. Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. *J Nutr* 2002; 132 (12): 3704-3714.
24. Evans B, Hood R, Oakenfull D, Sidhu G. Relationship between structure and function of dietary fibre: a comporative study of the effects of three galactomannans on cholesterol metabolism in the rat. *Brit J Nutr* 1992; 68 (1): 217-29.
25. Levrat MA, Remesy C, Demigne C. High Propionic Acid Fermentations and Mineral Accumulation in the Cecum of Rats Adapted to Different Levels of Inulin. *J Nutr.* 1991; 121(11): 1730-37.
26. Ferreira AC. Tendências mercadológicas de produtos lácteos fermentados e bebidas lácteas. In: Lerayer ALS; Salva TJG., coords. Leites fermentados e bebidas lácticas. Campinas: ITAL. 1997; 7.21-7.40.
27. Campbell JM, Fahey GCJr, Wolf BW. Selected Indigestible Oligosaccharides Affect Large Bowel Mass, Cecal and Fecal Short-Chain Fatty Acids, pH and Microflora in Rats. *J. Nutr.* 1997; 127 (1): 130–36. doi: 0022-3166/97.
28. Berggren AM, Björck IME, Nyman EMGL, Eggum BO. Short-chain fatty acid content and pH in caecum of rats given various sources of carbohydrates. *J Sci Food Agric.* 1993; 63(4): 397–406. doi:: 10.1002/jsfa.2740630405
29. Deremaux LG, Ringard F, Desailly F, Wils D. Effects of a soluble dietary fibre NUTRIOSE® on colonic fermentation and excretion rates in rats. *Nutr Res Pract.* 2010; 4(6):470-76. doi: 10.4162/nrp.2010.4.6.470.

**Tabela 1.** Composição das dietas experimentais.

Ingrediente (g/Kg)	Dietas (g)							
	N P	HL C	HL L7,5%	HL L15%	HL F7,5%	HL F15%	HL O4%	HL O8%
Sacarose	100	100	100	100	100	100	100	100
Amido de milho	465,47	232,47	217,59	202,80	210,16	184,81	232,47	232,47
Caseína	152,22	152,22	137,2	122,1	126,33	100,45	152,22	152,22
Amido dextrinizado	155	155	155	155	155	155	155	155
Óleo de soja	40	-	-	-	-	-	-	-
Fibra	50	50	31,58	13,16	23,49	-	50	50
Mix mineral	35	35	35	35	35	35	35	35
Mix vitamínico	10	10	10	10	10	10	10	10
L-cistina	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Tetra butilhidroquinona	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Banha suína	-	250	223,32	196,63	249,71	249,43	210	170
Colesterol	-	10	10	10	10	10	10	10
Ácido cólico	-	1	1	1	1	1	1	1
Linhaça triturada*	-	-	75	150	-	-	-	-
Farelo	-	-	-	-	75	150	-	-
desengordurado**	-	-	-	-	-	-	-	-
Óleo de linhaça***	-	-	-	-	-	-	40	80
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

**N:** Dieta Normal; - **P:** Grupo Padrão; **HL:** Dietas Hiperlipídica; - **C:** Grupo Controle; - **L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.

\*Proteína: 15,82g; Lipídeos: 35,58g; Fibra: 24,56g; Cinzas: 3,34g; Umidade: 7,47; Carboidratos: 13,2g (g/100g)

\*\* Proteína: 27,2g; Lipídeos: 0,38g; Fibra: 35,35g; Cinzas: 6,36g; Umidade: 7,93; Carboidratos: 22,78g (g/100g)

\*\*\* 55% de ácido graxo alfa-linolênico, analisado por cromatografia gasosa.

**Tabela 2.** Composição das dietas dos grupos experimentais, em base úmida (g/100g). Universidade Federal de Pelotas (RS), 2010.

	Dieta (g/100g)						
	Controle	HL7,5%	HL 15%	HF7,5%	HF15%	HO4%	HO8%
Proteína	11,83±0,01	12,33±0,02	12,01±0,05	12,4±0,03	13,09±0,03	11,62±0,01	12,15±0,02
Extrato etéreo	26,81±0,58	25,86±0,11	26,25±1,06	25,66±0,92	25,36±0,23	25,79±0,62	25,39±0,75
Resíduo mineral fixo	2,53±0,01	2,82±0,16	3,4±0,31	2,72±0,08	3,4±0,20	2,39±0,23	2,88±0,10
CH*	48,55	46,57	48,7	50,38	48,37	49,78	48,95
Fibra total	6,27±0,61	6,03±0,66	5,99±0,67	5,1±0,39	4,72±0,46	4,55±0,42	5,4±0,42
Umidade	5,34±0,12	5,73±0,16	5,02±0,11	4,91±0,12	5,53±0,11	6,25±0,52	6,05±0,04

CH\* Carboidratos. Resultados expressos em Média (M) e Desvio-Padrão (DP).

**Tabela 3.** Excreção da massa fecal úmida (g) e dessecada (g), correspondente a 10 dias de dieta, das fêmeas *Wistar*. Universidade Federal de Pelotas (RS), 2010.

Dietas	Peso fezes úmidas (g)	Peso fezes dessecadas (g)
Hiperlipídica	12,6±1,29 <sup>b</sup>	10,26±0,89 <sup>c</sup>
HL7,5%	12,49±2,02 <sup>b</sup>	11,1±1,59 <sup>b,c</sup>
HL 15%	14,7±2,06 <sup>a,b</sup>	12,55±1,91 <sup>a</sup>
HF 7,5%	13,62±1,25 <sup>a,b</sup>	11,05±1,04 <sup>b,c</sup>
HF 15%	16,39±3,91 <sup>a</sup>	11,76±0,61 <sup>a,b</sup>
HO 4%	12,42±1,39 <sup>b</sup>	10,05±0,99 <sup>c</sup>
HO 8%	12,37±0,73 <sup>b</sup>	10,74±0,36 <sup>b,c</sup>

Padrão: fezes úmidas 15,93±2,61; fezes dessecadas 11,87±0,93.

Resultados expressos em Média (M), Desvio-Padrão (DP). Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey com  $p < 0,05$ .

**L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.

**Tabela 4.** Peso do ceco vazio (g), conteúdo (g) e pH do conteúdo cecal das fêmeas Wistar. Universidade Federal de Pelotas (RS), 2010.

Dietas	Peso do ceco vazio (g)	Conteúdo cecal (g)	pH do conteúdo do ceco
Hiperlipídica	1,10±0,20 <sup>a</sup>	1,94±0,24 <sup>b</sup>	7,27±0,12 <sup>a</sup>
HL7,5%	1,24±0,17 <sup>a</sup>	1,88±0,42 <sup>b</sup>	7,19±0,37 <sup>a</sup>
HL 15%	1,52±0,19 <sup>a</sup>	2,63±0,55 <sup>a,b</sup>	7,19±0,37 <sup>a</sup>
HF 7,5%	1,31±0,07 <sup>a</sup>	2,22±0,38 <sup>b,c</sup>	7,12±0,22 <sup>a</sup>
HF 15%	1,54±0,51 <sup>a</sup>	3,03±0,57 <sup>a</sup>	7,17±0,4 <sup>a</sup>
HO 4%	1,16±0,19 <sup>a</sup>	1,72±0,38 <sup>c,d</sup>	6,91±0,66 <sup>a</sup>
HO 8%	1,24±0,29 <sup>a</sup>	1,86±0,45 <sup>b,d</sup>	7,17±0,36 <sup>a</sup>

Padrão: Peso ceco 1,19±0,18; conteúdo cecal 2,42±0,24; pH 7,42±0,41

Resultados expressos em Média (M), Desvio-Padrão (DP). Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey com  $p < 0,05$ .

**L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.

**Tabela 5.** Consumo de fibra (g), fibras nas fezes (g), em base seca, correspondente a 10 dias, fêmeas *Wistar*. Universidade Federal de Pelotas (RS), 2010

Dietas	Consumo de fibra (g)	Fibras nas fezes (g)
Hiperlipídica	6,14±0,61 <sup>b</sup>	5,64±0,1 <sup>a</sup>
HL7,5%	7,68±1,22 <sup>a</sup>	3,8±0,13 <sup>b</sup>
HL 15%	5,8±0,45 <sup>b,c</sup>	2,78±0,2 <sup>c</sup>
HF 7,5%	4,89±0,29 <sup>c</sup>	2,89±0,22 <sup>c</sup>
HF 15%	5,42±0,51 <sup>b,c</sup>	1,41±0,06 <sup>d</sup>
HO 4%	5,54±0,31 <sup>b,c</sup>	5,31±0,17 <sup>a</sup>
HO 8%	5,58±0,39 <sup>b,c</sup>	5,28±0,46 <sup>a</sup>

Padrão: consumo de fibra 9,91±1,08, excreção de fibra nas fezes 6,00±0,47.

Resultados expressos em Média (M), Desvio-Padrão (DP). Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey com  $p < 0,05$ .

**L7,5%:** Grupo 7,5% Linhaça; - **L15%:** Grupo 15% Linhaça; - **F7,5%:** Grupo Farelo 7,5%; - **F15%:** Grupo Farelo 15%; - **O4%:** Grupo óleo 4%; - **O8%:** Grupo Óleo 8%.